

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

DE LA RÉACTION DE FIXATION CHEZ LES TUBERCULEUX

par A. BESREDKA et J. MANOUKHINE

(Laboratoire de M. Metchnikoff.)

I

A cinquante cobayes de 350 à 500 grammes, il est injecté 1/100 de milligramme de bacilles tuberculeux sous la peau. Neuf jours après, on en sacrifie deux, ainsi que deux cobayes témoins. Un des deux inoculés a la rate légèrement augmentée de volume et de petits ganglions dans l'aîne; l'autre n'a rien. On récolte le sérum de ces quatre cobayes pour y rechercher des anticorps au moyen de la réaction de Bordet-Gengou.

Comme antigène, on emploie la tuberculine préparée par un de nous et obtenue avec des cultures en bouillon à l'œuf, décrit ailleurs (1).

Ce premier examen a donné une réaction nettement positive: donc, neuf jours après l'injection d'une dose minime de virus, alors qu'à l'examen macroscopique, les lésions sont à peine marquées ou nulles, il y a des anticorps dans le sérum.

COMBIEN DE TEMPS CES ANTICORPS PERSISTENT-ILS DANS LE SÉRUM?

Nous avons sacrifié les autres cobayes de la série après 12, 15, 20, 29, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 105, 110 et

(1) Voir ces *Annales*, 1913, p. 1009.

113 jours. La marche de la tuberculose est, on le sait, sujette à des variations, même chez les cobayes inoculés dans les mêmes conditions. Ces différences individuelles n'empêchent pas tout de même, surtout quand on expérimente sur un grand nombre d'animaux, de se faire une idée d'ensemble du phénomène.

Or, en examinant les cobayes tuberculeux à des intervalles indiqués, nous avons vu que ce pouvoir de fixer l'alexine, en présence de la tuberculine, devenait de plus en plus marqué. A certains moments (entre le 50^e et le 80^e jour), il baissait pour redevenir ensuite de nouveau très prononcé pendant une certaine période (à partir du 90^e jour); il retombait à zéro quelque temps avant la mort de l'animal.

A QUEL MOMENT APPARAISSENT LES ANTICORPS ET QUELS SONT LEURS CARACTÈRES AU DÉBUT DE L'INFECTION ?

Pour nous en rendre compte, nous avons inoculé 46 autres cobayes dans des conditions à peu près analogues à celles de la première série.

Chaque jour, dès le lendemain de l'inoculation, on sacrifiait un ou deux cobayes, pendant 29 jours de suite; on examinait le sérum au point de vue de la fixation de l'alexine tout en notant l'état des organes.

Le premier jour, la réaction a été négative. Les deux jours suivants, il y a eu un commencement de fixation. Le 4^e jour, la fixation a été nette. A partir de ce jour, la réaction est restée positive tout en présentant des oscillations jusqu'au 16^e jour. Entre le 17^e et le 29^e jour, la fixation n'a été que partielle. Elle a été trouvée fortement prononcée entre le 64^e et le 70^e jour.

Chez les cobayes de cette série, pendant les dix premiers jours qui ont suivi l'inoculation, on ne pouvait constater aucune lésion macroscopique; la rate, qui est généralement la première touchée, a conservé son aspect et ses dimensions normales.

L'antigène à l'œuf a donc permis de déceler la présence d'anticorps dès le 4^e jour de l'infection, alors qu'il n'y a pas encore eu de lésions visibles à l'œil nu.

COMMENT LES ANTICORPS SE MODIFIENT-ILS SOUS L'INFLUENCE
DE LA TUBERCULINE?

A deux cobayes ayant reçu 9 jours auparavant des bacilles tuberculeux (1/100 milligramme) sous la peau, on injecte dans le péritoine 0,25 cent. cubes de tuberculine brute, dans 2,5 cent. cubes d'eau physiologique. Le lendemain, on saigne les deux cobayes, ainsi que deux autres tuberculeux de la même série, mais non injectés avec la tuberculine.

Chez les deux derniers, le sérum donne une réaction de fixation très nette; chez les deux cobayes ayant reçu la tuberculine, la fixation est, par contre, nulle. Dans ce dernier cas, non seulement l'hémolyse n'est pas empêchée, elle semble même favorisée: elle apparaît quelquefois plus tôt que dans les tubes contenant du sérum de cobaye normal. On ne pourrait se l'expliquer autrement qu'en admettant que ce dernier renferme un anticorps normal; que cet anticorps s'accroît sous l'influence du virus inoculé, et que l'injection de la tuberculine amène une neutralisation totale de l'anticorps, aussi bien de celui qui s'est formé après l'inoculation que de celui qui était préformé chez le cobaye normal.

Ajoutons que, dans les conditions d'expérience indiquées, l'anticorps n'a réapparu dans le sérum que 6 ou 7 jours après l'injection de la tuberculine.

En résumé :

1° Au moyen de la tuberculine à l'œuf, on peut révéler dans le sérum des cobayes tuberculeux un anticorps fixant l'alexine dès le 4^e jour de l'infection.

2° Cet anticorps persiste dans le sérum des cobayes tuberculeux pendant la grande partie de la maladie et n'en disparaît qu'avant la mort.

3° Cet anticorps disparaît du sérum pendant plusieurs jours, sous l'influence de la tuberculine.

Faisons remarquer, pour éviter toute erreur d'interprétation, que bien souvent les sérums des cobayes, chez lesquels le

processus est déjà avancé, fixent d'eux-mêmes une grande quantité d'alexine, en l'absence de l'antigène (1). N'ayant jamais observé rien de pareil avec les sérums de cobayes normaux, nous estimons que cette fixation est l'apanage des cobayes tuberculeux.

Peut-être le sang des cobayes tuberculeux charrie-t-il à la fois l'antigène et l'anticorps et ceux-ci en se rencontrant dans le sérum, se combinent-ils entre eux et donnent-ils lieu à une fixation spécifique de l'alexine.

Toujours est-il que lorsqu'on injecte à un cobaye tuberculeux, dont le sérum est par lui-même empêchant, une dose non mortelle de tuberculine, son sérum perd, au bout de 6-8 heures, sensiblement de son pouvoir antihémolytique.

II

L'apparition précoce de la réaction de fixation chez le cobaye tuberculeux nous a incités à faire des recherches de même ordre chez l'homme.

Nous nous sommes adressés tout d'abord à des personnes non hospitalisées. Grâce à l'aide bienveillante de MM. Levaditi et Latapie, nous avons pu examiner 750 personnes parmi celles qui se présentent à l'Institut Pasteur pour la réaction de Wassermann.

L'examen du sérum de ces 750 personnes nous a donné, avec l'antigène tuberculeux, les résultats suivants :

69	réactions positives (9,2 p. 100) ;
16	— partielles (2,1 p. 100) ;
665	— négatives (88,7 p. 100).

Sur les 69 individus ayant donné une réaction positive, nous en avons examiné 53 au point de vue clinique, les autres n'ayant pas répondu à la convocation. Chez ces 53 individus, l'examen clinique a fourni les résultats suivants :

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXVI, p. 638.

- 37, tuberculose pulmonaire au premier degré;
- 4, tuberculose pulmonaire au deuxième degré;
- 1, respiration saccadée au sommet droit, sans autres symptômes;
- 1, matité au sommet gauche; à l'examen radioscopique, ganglions bronchiques;
- 4, expiration prolongée à gauche, sans autres symptômes;
- 1, lésion cutanée de nature non déterminée;
- 1, le sérum empêche l'hémolyse à lui seul, en l'absence d'antigène;
- 4, aucun signe objectif (deux d'entre eux cohabitent avec des personnes tuberculeuses; un a une bronchite chronique; un autre, une bronchite aiguë empêchant de juger de l'état des sommets).

Total : 53.

Notons, en passant, qu'avec l'antigène syphilitique, les sérums de ces 69 individus ont donné la réaction positive dans 51 cas, la réaction partielle dans 1 cas et la réaction négative dans 17 cas. Faisons remarquer que les sérums qui fixent fortement l'antigène syphilitique ont toujours une tendance à se comporter de même vis-à-vis de l'antigène tuberculeux.

Sur les 16 individus ayant donné une réaction partielle, chez 14 examinés cliniquement on a pu déceler, au moyen de la percussion et de l'auscultation, des lésions peu étendues aux sommets; il s'agissait dans la plupart des cas de processus plus ou moins anciens, en voie de cicatrisation. La réaction de fixation partielle semble donc correspondre à des lésions cicatricielles.

Avec l'antigène syphilitique, ces 16 sérums ont donné la réaction positive dans 8 cas, la réaction partielle dans 4 cas et la réaction négative dans 4 cas.

Sur les 665 individus ayant donné une réaction négative, nous n'avons examiné, au point de vue clinique, que 145, en choisissant de préférence des sujets qui ne nous paraissaient

pas jouir d'une santé parfaite. L'examen de ces 145 individus nous a fourni les résultats suivants :

- 107, ne présentent rien d'anormal;
- 15, présentent des signes faisant suspecter une ancienne lésion tuberculeuse;
- 3, bronchite aiguë;
- 17, bronchite chronique;
- 1, diabète;
- 1, ictère;
- 1, paludisme.

Les sérums de ces 665 individus, examinés au point de vue de la réaction de Wassermann, se sont montrés positifs dans 253 cas (38 p. 100), partiels dans 50 cas (7,5 p. 100), négatifs dans 362 cas (54,5 p. 100).

Nous nous sommes ensuite adressés à des personnes dont nous connaissions d'avance l'histoire clinique : c'étaient tantôt des personnes de notre entourage, tantôt des malades hospitalisés (1). Ces personnes appartiennent à plusieurs catégories; elles sont au nombre de 150, et cliniquement peuvent être réparties de la façon suivante :

Non-tuberculeux :

- 16, état général excellent;
- 11, anciens tuberculeux guéris;
- 16, maladies diverses (artériosclérose et lésions organiques du cœur, néphrites aiguë et chronique, pneumonie grippale, pleurésie, chlorose, anémie pernicieuse, cirrhose du foie, paludisme, échinococcie, bronchite, diabète, salpingite).

Tuberculeux :

- 2, tuberculose du larynx;
- 4, tuberculose rénale;
- 1, tuberculose de la glande mammaire;
- 16, tuberculose pulmonaire au premier degré;
- 31, tuberculose pulmonaire au deuxième degré;
- 53, tuberculose pulmonaire au troisième degré.

(1) Nous remercions les D^{rs} Rist, Robin et Vaquez, chefs de service à Laënnec, Beaujon et Saint-Antoine, ainsi que les D^{rs} Doyen, N. Fiessinger et Jamanouchi, de leur précieux concours.

Chez tous les non-tuberculeux, la réaction de fixation a été négative. Par contre, dans toutes les formes de tuberculose, laryngée, rénale, mammaire et pulmonaire, il y a eu, à quelques exceptions près, une fixation plus ou moins marquée de l'alexine, en présence de l'antigène tuberculeux. Nous disons plus ou moins marquée, car :

Sur 31 tuberculeux du deuxième degré, 3 ont donné une fixation partielle;

Sur 53 tuberculeux du troisième degré, 9 ont donné une fixation partielle et 11 n'ont pas donné de fixation du tout.

Ajoutons que ces 11 malades qui ont donné une réaction négative sont morts dans les 15-30 jours qui ont suivi l'examen du sang (1).

En résumé :

1° Dans la première période de la tuberculose, la réaction de fixation est toujours positive;

2° Dans la seconde période, la réaction est positive dans la grande majorité des cas;

3° Dans la troisième période, la réaction est souvent partielle ou négative; dans ce dernier cas elle est généralement présage d'une issue fatale à brève échéance.

La conclusion générale qui se dégage de l'ensemble des faits exposés dans cet article est que le cobaye et l'homme réagissent à peu près de la même façon à l'infection tuberculeuse; cette réaction, qui se traduit par l'apparition dans le sérum d'un anticorps spécifique, peut être utilisée pour le diagnostic et, jusqu'à un certain degré, pour le pronostic de la tuberculose.

(1) Signalons dès maintenant que les sérums des personnes atteintes de pleurésie avec épanchement, de méningite tuberculeuse et de granulie donnent une réaction de fixation négative.

V. Juillet 1913.

LA GÉLOSE A L'ŒUF

par A. BESREDKA et F. JUPILLE

(Laboratoire de M. Metchnikoff.)

Les milieux de culture usuels sont ou solides, ou liquides. Les premiers, en offrant aux microbes une large surface, leur permettent de se développer sans qu'ils soient gênés par les produits d'échange; les seconds présentent surtout l'avantage d'être riches en matières nutritives.

Mais les uns et les autres donnent un rendement bien inférieur à celui que l'on peut obtenir en les combinant.

En effet, lorsqu'on constitue un milieu mixte, une sorte de milieu solide-liquide, les cultures sont notablement plus riches que celles fournies par chacun des milieux employés séparément.

Le principe de milieu solide-liquide a été mis en œuvre la première fois pour le streptocoque il y a une dizaine d'années (1). Ayant besoin, pour la préparation du sérum antistreptococcique, de grandes quantités de corps de microbes, nous avons eu l'idée de nous servir d'un milieu mixte que nous avons appelé *gélose-sérum* et qui n'est rien autre que de la gélose arrosée de sérum.

La gélose seule est, comme on le sait, un milieu médiocre pour les streptocoques. Au bout de vingt-quatre heures, on voit des colonies granuleuses, ponctiformes, se détachant difficilement du milieu et donnant une récolte très pauvre. Mais il suffit d'arroser, une heure avant l'ensemencement, la boîte de Roux avec 1-2 cent. cubes de sérum chauffé de cheval, de façon à laisser la gélose s'imprégner de substances nutritives de sérum, pour obtenir, vingt-quatre heures après, une culture de streptocoques des plus abondantes; elle est d'une richesse

(1) A. BESREDKA, ces *Annales*, 1904, t. XVIII, p. 365.

telle que, malgré nos dix années de pratique, nous sommes chaque fois à nous demander si nous ne sommes pas victimes d'une contamination, tellement est luxuriante la récolte des streptocoques sur gélose-sérum.

Dernièrement nous avons décrit un milieu liquide, le bouillon à l'œuf (1). Les microbes les plus exigeants, tels que le gonocoque, le microbe de la coqueluche, le pneumocoque, le bacille tuberculeux et beaucoup d'autres s'y développent rapidement et abondamment. On pouvait se demander si, en constituant un milieu solide-liquide avec du bouillon à l'œuf, on n'arriverait pas à faire pousser sur gélose des microbes qui s'y montrent, en général, réfractaires.

Nos essais ont porté sur le gonocoque, le microbe de la coqueluche de Bordet et Gengou, le microbe de Pfeiffer, le pneumocoque, le méningocoque, le streptocoque et les bacilles tuberculeux, humain et bovin.

Les boîtes de Roux contenant de la gélose ordinaire, peptonée ou apeptonée (2), sont arrosées avec 4 cent. cubes de bouillon à l'œuf. Elles sont laissées à l'étuve au moins pendant une nuit avant l'ensemencement, afin de rendre plus complète l'imprégnation de la gélose par le bouillon.

Il est inutile d'entrer dans la description détaillée de chacun des microbes cultivés sur gélose à l'œuf. Faisons remarquer que tous ont donné, surtout après avoir passé trois ou quatre fois par le bouillon à l'œuf, des cultures d'une abondance inconnue jusqu'à présent, même dans leurs milieux de prédilection.

Le coccobacille de Bordet et Gengou, contrairement aux autres qui se développent déjà en 24 heures, exige 48 heures d'étuve, après quoi toute la surface du milieu se recouvre d'une couche de microbes très épaisse, de consistance de crachats mucopurulents.

Le bacille tuberculeux commence à se développer après

(1) Ces *Annales*, 1913, p. 1009.

(2) Pour préparer de la gélose apeptonée, nous faisons une macération de 750 grammes de viande dans 1.200 cent. cubes d'eau. Cette macération, chauffée d'abord à petit feu, puis portée à l'ébullition pendant une demi-heure environ, est réduite par évaporation à un litre. Après filtration, on ajoute 2 p. 100 de gélose que l'on fait fondre à petit feu. On alcalinise franchement; on fait de nouveau bouillir la gélose pendant vingt-cinq minutes, après quoi on la répartit en tubes que l'on stérilise à 115 degrés.

48 heures, surtout lorsqu'il est habitué au bouillon à l'œuf. Après 8 jours d'étuve, toute la surface est tapissée d'un semis innombrable de granulations ou de petites écailles de forme irrégulière.

On peut employer aussi avantageusement de grands tubes de gélose (22 × 22), arrosés de 2 cent. cubes de bouillon à l'œuf.

En résumé : la gélose à l'œuf est un milieu de choix, au point de vue de l'abondance et de la rapidité du développement, pour un grand nombre de microbes difficiles à cultiver ou à conserver, tels que le gonocoque, le microbe de la coqueluche, le pneumocoque, le bacille tuberculeux, etc.

RECHERCHES SUR LE PLEXUS CARDIAQUE ET SUR L'INNERVATION DE L'AORTE

par Y. MANOUÉLIAN
de l'Institut Pasteur de Paris.

(Avec les planches XIX et XX.)

A la suite de nos recherches sur la pathogénie des altérations artérioscléreuses, nous avons entrepris l'étude histologique du système nerveux à l'état normal et pathologique. Dans ce travail nous relatons nos résultats sur l'innervation de la portion ascendante et de la crosse de l'aorte du chien normal.

Pour cette étude, nous nous sommes servi de la méthode d'imprégnation au nitrate d'argent, précédée de la fixation des pièces par l'alcool ammoniacal.

Ce qui nous a frappé d'abord, c'est l'*existence de nombreux centres nerveux dans le plexus cardiaque postérieur*. Comme on le sait, ce plexus, situé derrière l'aorte et en avant de la trachée, est composé de filets nerveux richement anastomosés. Or nous y avons observé des ganglions nerveux contenant des cellules à type sympathique, ganglions dont la plupart sont microscopiques; on en trouve pourtant qui sont visibles à l'œil nu sur des coupes imprégnées, mais ils sont toujours fort petits (planche XIX, fig. 1, 2, 3).

Leur nombre est plus ou moins considérable suivant les régions; sur une seule coupe nous en avons compté jusqu'à sept et parfois même davantage.

De plus, il n'est pas rare de rencontrer dans le tissu interstitiel du plexus des cellules nerveuses solitaires. On peut en rencontrer aussi dans les troncs nerveux où, maintes fois, on constate l'existence des ganglions nerveux minuscules.

On sait que le plexus cardiaque postérieur est formé de la plupart des nerfs cardiaques sympathiques ainsi que de la plupart des nerfs cardiaques du pneumogastrique. Etant donnée la part prépondérante que prend ce plexus (appelé à juste titre

grand plexus cardiaque de Haller) à la constitution du plexus cardiaque et consécutivement à l'innervation du cœur et des gros vaisseaux, l'existence de nombreux centres nerveux dans son intérieur nous paraît un fait très important.

Ce qu'il y a de remarquable encore, c'est la présence de cellules nerveuses dans l'aorte en pleine mésartère (planche XIX, fig. 4).

Il s'agit de cellules solitaires, à type sympathique, siégeant dans le tissu conjonctif de la mésartère. Dans nos imprégnations elles sont en nombre restreint.

TERMINAISONS NERVEUSES AU NIVEAU DES FIBRES ÉLASTIQUES ET DES CELLULES MUSCULAIRES LISSES DE L'AORTE.

De calibre variable et plus ou moins onduleuses, les fibres nerveuses quittent le tissu conjonctif de la mésartère et se dirigent vers les fibres élastiques et les cellules musculaires lisses; après un certain parcours, elles se terminent à leur niveau soit par un renflement qui peut affecter la forme d'un bouton arrondi, soit par une extrémité plus ou moins effilée (planche XIX et XX, fig. 6 et 7).

Au niveau des cellules musculaires lisses, il existe des arborisations analogues aux plaques motrices des muscles striés (planche XIX, fig. 5).

TERMINAISONS NERVEUSES DANS LE TISSU CONJONCTIF DE LA MÉSARTÈRE.

Ce tissu est richement innervé; à part les fibres nerveuses destinées aux fibres élastiques et aux cellules musculaires lisses, il en existe en grand nombre qui s'y terminent. Nous avons découvert des modes de terminaison nerveuse dont voici les plus intéressants: de fines fibres se ramifiant dans une certaine étendue (planche XX, fig. 8). Des grosses fibres nerveuses se terminant par un renflement considérable en forme de hache ou de massue. Souvent disposées sans ordre, quelquefois ces massues se groupent ensemble en nombre variable. Sur de bonnes imprégnations, on voit nettement les fibrilles de la fibre nerveuse s'étaler en un réticulum très fin à leur niveau (planche XX, fig. 9).

D'autres fibres nerveuses se terminent par un renflement moins considérable que les précédentes sous la forme de gros boutons. Il y en a aussi qui, au niveau de leur renflement terminal, présentent de petites excroissances.

Enfin, il existe un autre mode de terminaison nerveuse ; les fibres nerveuses se résolvent en fines fibrilles, formant une élégante pelote (planche XX, fig. 10).

Comme toutes ces fibres nerveuses ne sont pas en rapport avec les éléments moteurs (les cellules musculaires lisses), mais qu'elles se terminent dans le tissu conjonctif, force nous est donc d'admettre qu'elles sont de nature sensitive.

On n'avait jamais signalé l'existence de terminaisons sensibles dans la mésentère. Nos recherches montrent qu'il en existe de nombreuses, polymorphes.

Le rôle des terminaisons sensibles doit être très important dans le mécanisme de la dilatation et de la constriction des artères. Ce sont les fibres sensibles vasculaires qui apportent l'excitation à leurs cellules, lesquelles, par leur prolongement central, la réfléchissent directement ou indirectement sur les neurones sympathiques vaso-moteurs, neurones dont le prolongement périphérique transporte l'excitation à la cellule musculaire de l'artère. Il s'agit, en somme, d'un réflexe dont le point de départ est l'arborisation sensitive, et le point terminal la terminaison nerveuse motrice au niveau de la cellule musculaire lisse.

EXPLICATION DES PLANCHES XIX ET XX

FIGURES 1, 2, 3. — Ganglions nerveux du plexus cardiaque postérieur. Grossissement : 70, 80, 200 diamètres.

FIG. 4. — Cellule nerveuse siégeant en pleine mésentère. Grossissement : 1.000 diamètres.

FIG. 5. — Terminaison nerveuse au niveau d'une cellule musculaire lisse ; cette terminaison rappelle par sa forme la plaque motrice des fibres musculaires striées. Grossissement : 1.000 diamètres.

FIG. 6 et 7. — Fibres nerveuses se terminant par un renflement au niveau d'une cellule musculaire lisse. Dans la figure 6, le bouton terminal se trouve à cheval sur une fibre élastique et une cellule musculaire lisse. Grossissement : 800 diamètres.

FIG. 8. — Fibrilles nerveuses terminales dans le tissu conjonctif. Grossissement : 800 diamètres.

FIG. 9. — Terminaisons en massue. Grossissement : 1.000 diamètres.

FIG. 10. — Fibres nerveuses du tissu conjonctif. Remarquer une belle pelote terminale formée par quelques fibres nerveuses afférentes. Grossissement : 800 diamètres.

A PROPOS DES THÉORIES NOUVELLES

SUR LA PATHOGÉNIE DE L'ANGINE DE POITRINE

par Y. MANOUÉLIAN

Les recherches que nous venons d'exposer dans le travail précédent permettent de nous rendre compte de la pathogénie des crises de l'angine de poitrine. Nous savons désormais que la théorie coronarienne de ce syndrome s'est écroulée devant l'observation rigoureuse des faits d'ordre anatomo-clinique et physiologique. Il est démontré, en effet, que, chez des sujets ayant présenté des accès d'angine de poitrine, on n'a trouvé aucune lésion des coronaires à l'autopsie. D'autre part, l'on a constaté la sténose ou l'oblitération des artères cardiaques chez des individus qui n'avaient jamais eu d'angine de poitrine pendant leur vie. La physiologie a montré de son côté qu'après la ligature d'une branche des coronaires, les contractions cardiaques cessent dans la portion irriguée par cette branche, et que, lorsqu'on lie les deux coronaires à la fois, le cœur cesse de battre.

Il a donc fallu chercher d'autres facteurs pour la pathogénie de ce syndrome. Nothnagel, étudiant la relation entre le spasme vasculaire périphérique accompagné d'hypertension et l'angine de poitrine, a distingué un type d'angine vaso-motrice. Pal, Rist et Krantz, Vaquez ont établi que la pression sanguine même, si elle est normale ou basse, s'élève considérablement au moment où les accès éclatent. Or nous savons que l'élévation de la tension artérielle a pour effet l'hypertrophie du ventricule gauche et la dilatation de l'origine de l'aorte; mais, même avant d'en arriver à des lésions définitives, affirme Vaquez, on peut dans des accès aigus d'hypertension en reconnaître l'équivalent. L'accentuation si caractéristique du deuxième bruit aortique au cours des crises éclamptiques en est la preuve. Cette accentuation s'accompagne d'une distension transitoire de l'aorte à son origine qui disparaît lorsque la tension artérielle est revenue à la normale. Les expériences de Hurthle

démontrent la réalité de cette distension. En effet, chez l'animal, une augmentation de la pression artérielle équivalant à 10 millimètres correspondait à une augmentation de la capacité aortique d'environ 2 centimètres cubes.

Ce n'est donc pas seulement le cœur mais aussi l'origine de l'aorte qui supporte les effets de la tension artérielle exagérée et en réalité toute la région initiale du système artériel, toute la zone aortico-ventriculaire.

Chez des malades en état de mal angineux, M. Vaquez a constaté l'évolution parallèle de l'hypertension, de la distension cardio-aortique et de l'aire douloureuse. Dès la fin de la crise, la matité cardio-aortique reprenait ses dimensions initiales en même temps que la pression revenait à l'état normal.

Ces recherches ont conduit M. Vaquez à cette conviction que la distension aortique brusque, que provoque chez un sujet, dont l'aorte est déjà malade, une élévation accidentelle de pression, est la raison de l'apparition de l'accès douloureux.

L'existence de si nombreuses terminaisons sensibles, des cellules nerveuses dans la mésentère de l'aorte, ainsi que celle d'un nombre si considérable de centres nerveux juxta-aortiques échelonnés dans le plexus cardiaque postérieur, viennent appuyer vigoureusement cette théorie, et d'autant plus que, dans l'angine de poitrine, l'aortite et la péri-aortite sont presque constantes.

A côté de ces notions désormais acquises, nous estimons qu'on doit envisager aussi, à l'origine du syndrome angineux, l'éventualité d'une inflammation passagère de cette zone aortique ou d'une affection propre de son système nerveux dont nous avons montré le développement si étendu.

REMARQUE A PROPOS DE L'EXISTENCE DES CENTRES NERVEUX DANS LES ORGANES

par Y. MANOUÉLIAN

Depuis quelque temps, en parcourant un certain nombre de travaux relatifs à la physiologie et à la bactériologie, — et parmi eux il y en a de fort intéressants — nous avons été frappé de voir que les auteurs négligeaient absolument les centres nerveux périphériques contenus dans les organes. Et cette omission nous paraît si grave que nous avons décidé d'attirer l'attention des auteurs sur ce point, et de présenter quelques réflexions sur ce sujet.

Qu'il nous soit permis de faire remarquer aux expérimentateurs peu au courant d'histo-neurologie, que la conception simpliste d'un système nerveux sympathique central, constitué d'une chaîne ganglionnaire et de nerfs se rendant aux organes, fausserait les résultats de l'expérimentation.

Rappelons-nous que l'histologie a déjà montré l'existence de centres nerveux importants dans un certain nombre d'organes; et il en existe d'autres où leur présence était insoupçonnée : nos recherches personnelles, nous venons de le voir, permettent de l'affirmer. Aussi, quand des physiologistes, de grand mérite d'ailleurs, en étudiant l'action d'un agent sur la sécrétion d'une glande, découvrent que cette action n'est pas influencée par la section des nerfs glandulaires, ils pourraient commettre une erreur en affirmant que le système nerveux n'intervient nullement dans le mécanisme de la sécrétion; car ils élimineraient les centres nerveux intraglandulaires dont l'existence est seulement révélée par l'étude histologique. Pour que leur affirmation fût incontestable, il faudrait prouver que ces centres ne se laissent pas influencer par cet agent.

De même le bactériologiste, qui, après l'inoculation positive d'un organe prélevé dans une maladie infectieuse du système nerveux, affirmerait la virulence ou l'existence d'une toxine dans le tissu *propre* de l'organe, pourrait commettre une erreur pour la même raison que nous venons d'indiquer.

ÉTUDES SUR LE BACILLE DE MALASSEZ ET VIGNAL

LA PSEUDO-TUBERCULOSE DU COBAYE

(MALADIE NATURELLE ET MALADIE EXPÉRIMENTALE)

par G. RAMON

Le bacille de Malassez et Vignal a été aperçu pour la première fois (1884) par ces auteurs, dans un nodule sous-cutané de l'avant-bras d'un enfant mort de méningite tuberculeuse. Il existe dans l'air (Chantemesse, 1887), dans le sol (Grancher et Ledoux-Lebard) et, de ces milieux, il peut passer soit par l'intermédiaire des aliments, soit par tout autre mécanisme, dans des organismes appartenant à des espèces animales très variées. Il y provoque des infections, que l'on a désignées, à cause de leur ressemblance avec celle que détermine le bacille de Koch, sous le nom très général de pseudo-tuberculoses et que l'on peut appeler plus spécialement pseudo-tuberculoses coccobacillaires (1).

On a découvert et décrit les pseudo-tuberculoses coccobacillaires du cheval (Pfeiffer, 1888), du bœuf (Nocard, 1889), du chat (Galavielle, 1898), de la poule (Nocard, 1885), du lapin et du lièvre (Eberth, 1885; Dor, 1888; Lucet, 1898; Lignères, 1889) et, enfin, du cobaye (Eberth, 1885; Charrin et Roger, 1888; Zagari, 1889, etc...). Chez ce dernier animal, la maladie causée par le bacille de Malassez et Vignal présente de gros inconvénients. Le cobaye, en effet, est universellement employé comme sujet d'expérience; or les épizooties de pseudo-tuberculose coccobacillaire, qui se déclarent soit dans les élevages,

(1) Il existe en effet d'autres pseudo-tuberculoses dues à divers agents : bactéries, champignons, parasites animaux, matières inertes, etc... Cette dénomination de pseudo-tuberculoses coccobacillaires, qui rappelle l'aspect le plus fréquent du bacille de Malassez et Vignal, dans les lésions et les cultures, nous semble préférable à celle de tuberculose zoogléique (Malassez et Vignal) ou de pseudo-tuberculose streptobacillaire (Dor, Preiz), qui visent seulement une forme particulière du bacille.

soit dans les cages de laboratoire, apportent un trouble considérable dans les recherches. Elles en faussent profondément les résultats, car non seulement les cobayes malades sont plus sensibles aux infections expérimentales, mais encore les animaux meurent en grand nombre et très rapidement. Elles peuvent, en outre, induire en erreur, car les lésions dues au bacille de Malassez et Vignal ressemblent à certaines altérations provoquées par l'inoculation de micro-organismes divers : bacille de la tuberculose, morve, peste, etc... Il importe donc, pour éviter toute confusion avec les symptômes et les lésions de ces dernières infections, de bien connaître les caractères cliniques et anatomopathologiques de la pseudo-tuberculose spontanée. Si cette dernière présente, pratiquement, pour les bactériologistes, beaucoup d'inconvénients, par contre, la pseudo-tuberculose expérimentale peut, au point de vue théorique, offrir quelques avantages. Elle permet d'abord de préciser le mode d'infection dans la pseudo-tuberculose naturelle. D'un autre côté le grand pouvoir pathogène du bacille de Malassez et Vignal pour le cobaye, qui rend si fâcheuse l'affection naturelle, devient précieux lorsqu'il s'agit de la maladie expérimentale, ainsi que nous espérons le montrer dans ce travail.

MALADIE NATURELLE

Notre étude de la maladie naturelle est basée sur l'observation d'une épizootie qui a sévi pendant plusieurs mois sur un élevage de quelques milliers d'animaux et que nous avons pu suivre dans ses moindres détails.

Dès le début l'épidémie présente son maximum d'intensité. Elle atteint de nombreux sujets, sans distinction d'âge ni de sexe. Les malades offrent presque immédiatement des symptômes graves, entraînant une mort rapide. L'autopsie révèle des lésions septicémiques ou aiguës peu caractéristiques.

Dans une deuxième période, la mortalité est encore très élevée. Pas de symptômes bien nettement visibles d'abord, mais un état général qui devient de plus en plus mauvais. Les altérations variables, quant à leur localisation, sont nettement caractérisées.

Dans la dernière période, la mortalité a beaucoup diminué.

Les jeunes succombent de préférence, alors que les adultes paraissent résister. Les lésions sont toujours bien caractérisées, mais elles semblent n'avoir aucune tendance à l'envahissement.

SYMPTÔMES

La pseudo-tuberculose coccobacillaire du cobaye peut affecter au point de vue clinique les trois types suivants :

Type septicémique. — Le cobaye sain, en apparence tout au moins, est pris brusquement de symptômes graves. Immobile dans un coin de sa cage, le dos voûté, le poil hérissé, il est seulement agité de temps à autre par quelques tremblements ou bien par les mouvements liés à la dyspnée, qui augmente constamment d'intensité et qui s'accompagne de plaintes facilement perceptibles. Bientôt l'animal, resté debout jusque-là, se couche, et c'est alors l'asphyxie rapide, la mort vingt-quatre ou quarante-huit heures après l'apparition des premiers signes de la maladie.

Type classique. — Les symptômes sont au début peu marqués ; ce qui attire surtout l'attention c'est un amaigrissement progressif : en peu de temps, le cobaye est réduit à l'état de squelette ; son rachis est en lame de couteau, son poil piqué et si l'on palpe le ventre, qui est flasque et mou, on peut sentir, noyées au milieu des anses intestinales vides d'aliments, de petites masses arrondies correspondant à des ganglions mésentériques hypertrophiés. L'animal finit par mourir au bout d'un temps variable (une ou plusieurs semaines), dans un état de cachexie extrêmement prononcé, après avoir présenté dans les derniers jours des symptômes analogues à ceux du type précédent.

Type ganglionnaire. — Nous avons rencontré assez souvent ce type clinique, qui semble correspondre à une marche chronique de la maladie. Il s'agit d'adénopathies de la région sous-glossienne et cervicale. Les ganglions de cette région sont parfois considérablement hypertrophiés et forment, dans certains cas, de véritables paquets volumineux. Ils peuvent s'abcéder et leur contenu se déverse à l'extérieur.

LÉSIONS

Lorsqu'il s'introduit dans un organisme réceptif, le bacille de Malassez et Vignal y provoque presque toujours une lésion réactionnelle particulière : le pseudo-tubercule.

Ces pseudo-tubercules subissent une évolution sensiblement parallèle à celle du tubercule déterminé par le bacille de Koch et, dans la pseudo-tuberculose coccobacillaire comme dans la vraie tuberculose, on trouve tous les intermédiaires entre la granulation miliaire et le nodule franchement caséux.

Des différents aspects que peuvent présenter les pseudo-tubercules, de leur localisation à tel ou tel organe à l'exclusion des autres, de leur absence complète même, des altérations secondaires que peut provoquer le bacille de Malassez et Vignal dans les tissus, il résulte divers types anatomiques que nous avons rencontrés au cours de nos très nombreuses autopsies.

Forme latente. — Rien, le plus souvent, dans cette forme ne peut faire soupçonner que l'on se trouve en présence de pseudo-tuberculose coccobacillaire. Aucune trace de pseudo-tubercule, mais seulement une légère congestion du poumon, une hypertrophie plus ou moins marquée de la rate et du foie : ce sont là, en somme, les mêmes lésions que celles de la tuberculose type Yersin du lapin. Mais un simple frottis du foie ou de la rate permettra de reconnaître, au lieu du bacille de Koch, celui de Malassez et Vignal.

Forme pleuro-pulmonaire. — Le poumon est envahi par un semis de pseudo-tubercules de dimensions et d'âge variables suivant les cas. Tantôt ils sont à peine visibles, semblables à la granulation grise de Laënnec, tantôt plus développés, ils ont déjà subi un début de caséification. On peut aussi rencontrer des îlots de pneumonie caséuse.

Les lésions pulmonaires existent rarement seules ; le plus souvent la plèvre est atteinte d'altérations secondaires plus ou moins prononcées : pleurésie simple ou double, avec fausses membranes et exsudat purulent.

Forme digestive. — L'une des plus fréquentes et des plus typiques. Les lésions de l'intestin lui-même, ordinairement localisées aux dernières portions sont, en général, peu accen-

tuées ; elles sont représentées par des pseudo-tubercules ayant leur siège sous la muqueuse, sans que celle-ci soit d'ailleurs touchée par le processus pseudo-tuberculeux ; mais elles sont toujours accompagnées d'altérations ganglionnaires très importantes. Les ganglions mésentériques et principalement les ganglions iléo-cæcaux sont le siège d'une hypertrophie considérable ; leur volume atteint souvent celui d'une noisette et même d'une noix. Le tissu sain semble avoir complètement disparu ; on ne trouve, à l'incision, qu'une substance caséuse homogène.

Forme hépatico-biliaire. — On trouve habituellement, soit à la surface du foie, soit noyés dans le parenchyme hépatique, des pseudo-tubercules à tous les stades d'évolution : granulations miliaires, pseudo-tubercules en voie de caséification, nodules franchement caséux. Dans de nombreux cas, la vésicule biliaire elle-même est atteinte, ses parois renferment des pseudo-tubercules peu développés et la bile est remplacée par un liquide purulent.

Forme ganglionnaire. — Cette forme correspond au type clinique décrit sous la même dénomination ; les ganglions de la chaîne cervicale sont très hypertrophiés et ont subi la même transformation caséuse que les ganglions mésentériques.

Si les lésions sont le plus souvent bien localisées de manière à constituer les types que nous venons d'envisager, elles peuvent aussi être réunies sur le même cadavre ; on trouve alors à l'autopsie de nombreux pseudo-tubercules du foie, de la rate et même du poumon ainsi que des nodules caséux mésentériques. Les reins sont très exceptionnellement lésés.

Les différentes lésions de la pseudo-tuberculose spontanée, et en particulier dans les divers aspects que présente le pseudo-tubercule au cours de son évolution, peuvent être très facilement confondues avec certaines altérations spécifiques que provoque ou cherche à provoquer l'expérimentateur, chez le cobaye. Aussi l'observateur non prévenu pourra-t-il, s'il s'en tient à un examen superficiel surtout, faire des erreurs de diagnostic grosses de conséquences. Nous nous bornerons simplement à faire connaître quelques caractères propres à la lésion pseudo-

tuberculeuse, sans vouloir entrer dans tous les détails d'un diagnostic différentiel complet.

Les pseudo-tubercules de la maladie de Malassez et Vignal sont moins bien délimités que les tubercules vrais (tuberculeux ou morveux). Le contenu des pseudo-tubercules bien développés est uniformément caséux et d'une couleur blanc-sale, alors que dans la tuberculose, la morve, la sporotrichose par exemple, s'il est uniformément caséux, il affecte un ton jaunâtre plus ou moins accusé. L'hypertrophie considérable des ganglions mésentériques, que l'on observe si fréquemment soit seule, soit associée à d'autres lésions, semble pathognomonique de la pseudo-tuberculose ; il en est de même des adénites cervicales.

Mais, dans certains cas douteux où l'examen des lésions ne permettra pas de poser un diagnostic certain, l'expérimentateur devra recourir à un examen microscopique, pour déceler dans les produits pathologiques soit la présence de l'agent spécifique de la maladie qu'il étudie, soit celle du bacille de Malassez et Vignal.

Le bacille dans les lésions. — Les premiers auteurs (Malassez et Vignal, Chantemesse, Nocard, etc...), qui ont étudié la pseudo-tuberculose, ont donné comme caractéristique du bacille, dans les lésions, la zooglé : amas de courts bacilles, formant de longues chaînettes enchevêtrées. Mais on a bien vite reconnu que la zooglé n'était qu'un aspect transitoire et peu fréquent. On la rencontre seulement dans les lésions de cobayes ayant succombé très rapidement, dans notre forme latente par exemple. Mais, dans la plupart des cas, les microbes de Malassez et Vignal se présentent comme de courts bacilles (coccobacilles) soit isolés, soit en petites chaînettes ou bien plus souvent disposés en diplo. Grâce à la présence de vacuoles à la périphérie de chacun des germes en diplo, il en résulte un aspect en « nœud de ruban » très caractéristique (M. Nicolle).

La fréquence du bacille de Malassez et Vignal dans les produits pathologiques est fort variable ; très abondant, par exemple, dans les lésions de la forme latente, ils le sont moins dans les pseudo-tubercules jeunes. Ils deviennent rares, au point de n'être décelés qu'avec difficulté dans les pseudo-tuber-

cules caséeux et peuvent même faire complètement défaut dans les adénites cervicales et mésentériques.

MALADIE EXPÉRIMENTALE

Les quelques auteurs qui se sont préoccupés de reproduire expérimentalement la pseudo-tuberculose ont eu pour objet soit d'étudier les lésions (Grancher, Ledoux-Lebard, Lucet, etc...), soit de jeter un peu de lumière sur l'étiologie de l'affection naturelle (Lignières). Nous-même, nous nous sommes proposé de préciser les conditions d'infection des cobayes, mais nous avons eu surtout pour but l'analyse qualitative et quantitative de la virulence du bacille de Malassez et Vignal. C'est dans cette intention que nous avons isolé, au cours de l'épizootie qui a servi de sujet à notre étude de la maladie naturelle, un certain nombre d'échantillons du bacille. Cet isolement est relativement facile, car si les microbes de Malassez et Vignal sont parfois peu nombreux dans les produits pathologiques, ils y sont presque toujours à l'état de pureté.

Lorsque l'on parcourt les travaux parus sur la pseudo-tuberculose, on est surpris des divergences des auteurs quant aux caractères morphologiques, culturels ou biologiques du bacille et on serait tenté de croire à des infections différentes (Preiz). Ces caractères s'étant toujours montrés identiques dans les douze échantillons que nous avons spécialement étudiés, on nous permettra de les rappeler succinctement.

RAPPEL DES CARACTÈRES DU BACILLE

Caractères morphologiques. — Le polymorphisme du bacille que nous avons trouvé dans les lésions, nous le rencontrons à nouveau dans les cultures. Dans le bouillon les germes se présentent sous la forme de coccobacilles de 1 à 2 μ de long, soit isolés, soit groupés en longues chainettes. Ces chainettes deviennent de plus en plus courtes, à mesure que la culture vieillit.

Sur gélose, le microbe est beaucoup plus fin et plus allongé et tend franchement vers la forme bacillaire.

Le coccobacille de Malassez et Vignal ne prend pas le Gram.

Caractères de culture. — Il pousse facilement sur tous les milieux usuels.

En bouillon peptone ordinaire, dès la huitième ou la dixième heure, apparaissent de très fins flocons, qui s'épaississent par la suite et tombent bientôt au fond du tube. Au bout de quelques jours, tous les flocons se sont déposés; le liquide qui surnage reste clair et à sa partie supérieure se

forme une mince pellicule; celle-ci se fragmente en petites particules, qui sont entraînées à la partie inférieure du tube.

En bouillon Martin, la culture offre les mêmes particularités mais elle est peut-être un peu moins riche.

Sur gélose, le bacille pousse abondamment; c'est une nappe blanchâtre d'un ton écru. Lorsque la culture est déjà ancienne, elle dégage une odeur assez désagréable.

La gélatine n'est pas liquéfiée; en strie, il se forme une couche d'un blanc sale, peu épaisse; en piqûre, la culture apparaît sous forme d'un clou dont la tête seule est bien apparente.

Sur sérum, le bacille se développe suivant une trainée d'un blanc sale, semblable à la culture sur gélose, mais moins abondante.

Sur *pomme de terre*, la culture est beaucoup plus lente que sur les autres milieux; on observe d'abord une mince couche d'un blanc jaunâtre, qui brunit en vieillissant et prend l'aspect d'une culture morveuse.

Sur *gélose à la pomme de terre*, la culture est relativement pauvre et se fait sous forme d'une pellicule, qui ressemble à celle que l'on obtient en laissant tomber une goutte de bougie dans l'eau.

Caractères biologiques. — Le bacille de Malassez et Vignal ne fait fermenter ni le glucose ni le lactose, ne donne pas d'indol et ne coagule pas le lait; il aime les milieux glycinés. C'est un aérobie strict.

Certains auteurs indiquent comme température la plus favorable à la culture du bacille de Malassez et Vignal, celle de 20 degrés. Or nous avons toujours observé qu'à 37 degrés le bacille poussait plus abondamment qu'à 20 degrés.

CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Le bacille de Malassez et Vignal s'atténuant assez rapidement à l'étuve, afin d'assurer la conservation de nos échantillons, nous avons employé le procédé à la gélatine de MM. Nicolle et Adil-Bey pour le virus de la peste bovine, procédé utilisé avec succès, depuis des années, par Truche et Cotoni dans l'étude du pneumocoque.

A une culture en bouillon Martin de vingt-quatre heures, nous ajoutons deux volumes de gélatine à l'eau physiologique; après mélange, le tube scellé était placé à la glacière. Nos divers échantillons ont conservé leur activité, même après de longs mois, ainsi que nous avons pu nous en rendre compte par des titrages espacés.

Nous avons toujours employé, pour nos inoculations, des cultures de vingt-quatre heures en bouillon. Nous nous sommes préalablement assuré du peu de toxicité de ces cultures totales. Dans ce but, nous avons injecté, dans les veines de cobayes, 1, puis 2, puis 3 cent. cubes, sans qu'il en résultât de symptômes toxiques apparents. Nous pouvions donc, pratiquement, ne pas tenir compte de la toxine susceptible d'exister dans nos cultures totales; d'autant plus que les quantités employées couramment dans la mesure de la virulence n'ont jamais dépassé 1/10 de cent. cube. Nous avons toujours rapporté ces quantités au centimètre cube.

Comme matériel animal, nous nous sommes servi de cobayes mâles de 400 à 500 grammes, provenant d'un élevage indemne de pseudo-tuberculose.

Par de nombreux essais préliminaires que nous croyons

inutile de mentionner ici, nous avons comparé la virulence de nos divers échantillons. N'ayant pas trouvé de différence sensible, nous avons pris comme type l'un d'eux, le n° IX, qui nous a servi plus particulièrement dans toutes nos expériences.

Dans nos tentatives d'infection par ingestion comme dans nos inoculations intrapéritonéales, nous n'avons cherché aucune précision quantitative de la virulence ; nous avons réservé, pour le dosage de cette virulence, les voies intraveineuse et sous-cutanée.

INFECTION EXPÉRIMENTALE

Infection par ingestion. — Les cobayes qui absorbent des aliments, sur lesquels on a répandu une petite quantité de culture du bacille de Malassez et Vignal, ne tardent pas à présenter les symptômes de la maladie naturelle. Quatre cobayes, par exemple, reçoivent un repas infecté unique, constitué par un peu de son et de fourrage, arrosés de 4 cent. cubes d'une culture de vingt-quatre heures ; ils offrent bientôt tous les signes cliniques du type classique de l'affection spontanée. Ils meurent, tous les quatre, entre le 10^e et le 12^e jour, dans un état d'émaciation très accusé : le ventre mou, le rachis en lame de couteau. A l'autopsie, les parois de l'iléon et du cæcum sont infiltrées de pseudo-tubercules bien nets, les ganglions mésentériques et, en particulier, ceux de la région iléo-cæcale sont très hypertrophiés, ils atteignent, dans plusieurs cas, la grosseur d'une noisette et sont déjà caséeux en leur centre. Le foie et la rate sont envahis par un véritable semis de pseudo-tubercules miliaires ; quant aux poumons, leur altération est inconstante et consiste, lorsqu'elle existe, en granulations grises. On retrouve ici les lésions que nous avons signalées comme les plus caractéristiques dans la maladie naturelle.

Il est donc certain, comme Lignières en avait déjà émis l'opinion, que l'ingestion d'aliments souillés par le bacille de Malassez et Vignal représente sinon le seul, tout au moins le plus fréquent des modes d'infection du cobaye dans la pseudo-tuberculose spontanée.

Infection par la voie intrapéritonéale. — Le bacille de Malassez et Vignal possède la propriété, qu'il partage d'ailleurs avec

nombre de micro-organismes, bacille de la morve, microbe de Preiz-Nocard par exemple, de provoquer des lésions de vaginalite lorsqu'il est inoculé dans le péritoine du cobaye mâle (Basset).

Dès le 3^e ou le 4^e jour après l'inoculation de doses de bacilles variant entre 10^{-1} et 10^{-4} (1) cent. cubes, l'attention est attirée par l'œdème qui apparaît au niveau de la peau des bourses. Si l'on cherche à faire rentrer les testicules dans l'abdomen, en exerçant sur eux une certaine pression, on n'y arrive qu'avec difficulté. Cette difficulté augmente les jours suivants et, bientôt, les testicules sont complètement fixés dans le scrotum; en même temps, les bourses se sont tuméfiées, mais jamais cette tuméfaction n'atteint dans la pseudo-tuberculose l'intensité prononcée qu'on lui connaît dans la morve (M. Nicolle).

Le cobaye a succombé (généralement au bout de 6 à 7 jours) avant qu'une ouverture se soit produite dans le scrotum et ait donné issue, comme cela a lieu avec le bacille morveux ou le Preiz-Nocard, au pus accumulé à ce niveau. Il peut même arriver, si la dose a été suffisante (au minimum 10^{-1} cent. cube) que le cobaye meure prématurément (3^e ou 4^e jour) et que, dans ces conditions, les lésions génitales n'aient pas eu le temps de faire leur apparition cliniquement.

A l'autopsie, si l'on examine attentivement la région testiculaire, on remarque que les glandes génitales sont intimement soudées à leur enveloppe musculaire, la cavité des bourses contient une petite quantité d'exsudat fibrineux ou caséopurulent. Outre ces altérations, on trouve une péritonite séro-fibrineuse généralisée; l'épiploon, rétracté et épaissi, porte à sa surface quelques pseudo-tubercules en voie d'évolution. Le foie et la rate sont parsemés de granulations miliaires à peine visibles; le poumon est congestionné, et les granulations qu'on y observe dans certains cas restent microscopiques.

Infection par la voie intraveineuse. — Lorsque l'on injecte dans la veine des doses supérieures à 10^{-3} cent. cube, le cobaye ne manifeste, dans les heures qui suivent, aucun symptôme susceptible d'être rapporté à une action toxique de la

(1) Par convention nous employons la notation 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , etc., pour désigner 1/10, 1/100, 1/1.000 de cent. cube.

culture. Dès le 1^{er} ou le 2^e jour, apparaissent les signes cliniques qui rappellent ceux que nous avons mentionnés dans le type septicémique de la maladie naturelle : immobilité, dyspnée intense, etc... L'animal succombe 3 ou 4 jours au plus tard après l'injection. Les lésions sont celles de la granulie au début ; en examinant à la loupe le foie, la rate et le poumon, qui sont fortement congestionnés, on remarque, à leur surface, de nombreux petits points grisâtres, premier stade des granulations miliaries.

L'apparition des symptômes est plus tardive, l'évolution des lésions plus complète (et, par conséquent, celles-ci mieux marquées) avec des doses inférieures à 10^{-3} cent. cube. Avec 10^{-4} ou 10^{-5} cent. cube, les animaux succombent en général vers le 12^e ou le 15^e jour. La dose limite est comprise entre 10^{-7} et 10^{-8} cent. cube ; elle est sensiblement supérieure à celle qui amène la mort par la voie sous-cutanée (10^{-9} cent. cube).

Nous n'avons pas observé, dans nos essais, l'éruption pustuleuse qui se manifeste dans certains cas, lorsque l'on injecte dans les veines des microbes virulents, des bacilles de Preiz-Nocard en particulier (Panisset).

Infection par la voie sous-cutanée. — Nous envisagerons successivement la lésion locale que le bacille de Malassez et Vignal provoque au point d'injection et les lésions de généralisation, déterminées par sa diffusion dans l'organisme de l'animal inoculé.

Lésion locale. — Nous prendrons, pour suivre l'évolution de cette lésion, une dose moyenne, 10^{-4} cent. cube par exemple.

Quelques heures après l'inoculation, le liquide injecté s'est résorbé et il ne reste aucune trace de l'opération. Le 2^e jour seulement, apparaît un œdème peu étendu, sans modification apparente des téguments. Le 3^e jour, l'œdème s'étend en surface et en épaisseur, et son volume peut atteindre celui d'une amande. Du 4^e au 5^e jour, l'empâtement décroît ; du 6^e au 7^e jour, les téguments s'amincissent et on peut apercevoir une légère fluctuation. Du 8^e au 9^e jour, l'abcès s'ouvre, par amincissement progressif des téguments : le pus et le bourbillon sous-cutané s'échappent. Le pus continue à s'évacuer pendant les jours suivants ; mais la mort survient ordinairement vers le 10^e ou le 12^e jour.

Avec les doses supérieures ou inférieures à 10^{-4} cent. cubes, le processus est toujours le même; seule, l'intensité varie en plus ou en moins, mais étant donné que cette intensité est réduite, les différences entre les doses voisines sont à peine appréciables; elles ne sont sensibles qu'entre les extrêmes. La dose encore capable de produire une lésion locale est comprise entre 10^{-9} et 10^{-11} cent. cube.

Comme la dose mortelle ne dépasse guère 10^{-9} , les lésions locales, obtenues avec 10^{-10} ou 10^{-11} cent. cube, peuvent guérir et cela par cicatrisation de l'abcès ou même par résorption de l'empatement initial.

Lésions de généralisation. — La lésion locale provoque toujours un retentissement ganglionnaire sur les ganglions voisins précuraux ou axillaires, qui s'hypertrophient et peuvent devenir caséux si l'évolution de l'infection est suffisamment lente.

Mais la généralisation n'est pas limitée aux ganglions; elle s'étend aux différents organes ordinairement lésés par le bacille de Malassez et Vignal (sauf l'intestin). Le foie et la rate, les poumons même sont envahis par un semis de pseudo-tubercules à peine visibles et extrêmement nombreux lorsque la dose a été forte et la mort rapide, plus développés et moins nombreux si la dose a été plus faible et, par conséquent, la mort plus lente.

La mort survient dans des délais variables; grâce à nos nombreuses inoculations nous pouvons donner les chiffres suivants sans prétendre d'ailleurs à une exactitude mathématique :

10^{-1} à 10^{-3} .	8 à 10 jours,
10^{-3} à 10^{-4} .	10 à 12 jours.
10^{-4} à 10^{-7} .	12 à 15 jours.
10^{-7} à 10^{-9} .	15 à 30 jours.

Comme on le voit, la virulence du microbe de Malassez et Vignal est excessivement marquée chez le cobaye. Des doses infimes de culture déterminent par la voie sous-cutanée, non seulement une lésion locale typique, mais encore une généralisation au niveau des organes de prédilection.

TRAITEMENT VACCINOTHÉRAPIQUE DE LA FIÈVRE TYPHOÏDE

par E. BOINET,

Professeur de Clinique médicale, Médecin en chef des Hôpitaux,
Correspondant national de l'Académie de médecine.

(DEUXIÈME PARTIE)

II

Depuis la rédaction des observations qui précèdent, j'en ai fait un certain nombre d'autres, dont voici le résumé :

Dans cette série de 28 cas de fièvre typhoïde observés chez des hommes (salle Ducros, à l'Hôtel-Dieu) et confirmés par un séro-diagnostic positif à 1/100, nous avons eu 25 guérisons qui suggèrent les considérations suivantes :

Durée de la maladie. — La guérison est survenue 7 fois du 12^e au 17^e jour, 3 fois au 20^e jour, 4 fois du 21^e au 24^e jour. La durée de ces fièvres typhoïdes traitées par le virus sensibilisé de Besredka a donc été abrégée dans 14 cas et très nettement dans 10.

Nous relevons encore 2 cas de guérison au 29^e jour, 4 du 30^e au 37^e jour, 4 du 40^e au 49^e jour.

On peut citer comme exemple de l'action favorable du virus sensibilisé de Besredka, dans cette seconde série : l'observation I où l'injection de 4 cent. cubes de virus sensibilisé à partir du 7^e jour fut suivie d'apyrexie le 12^e jour ; l'observation VI dans laquelle la guérison survint le 13^e jour après l'injection de 3 cent. cubes de virus sensibilisé faite en 2 fois, les 10^e et 12^e jours ; l'observation VII où la convalescence arriva le 17^e jour après une injection de 2 cent. cubes 1/2 faite du 11^e au 16^e jour ; l'observation VIII où des injections d'une quantité globale de 3 cent. cubes 1/2 de virus sensibilisé espacées du 10^e au 20^e jour amenèrent la guérison le 20^e jour ; l'observation XIII

Deuxième série de cas de fièvre typhoïde traités par le virus sensibilisé de Besredka.

OBSERVATIONS	DÉBUT du traitement	DOSES	JOURS DE MALADIE	DURÉE du traitement	RÉCHUTES	COMPLICATIONS	MORT	REMARQUES
I.	7 ^e jour.	1 c.c. les 7 ^e et 9 ^e j., 2 c.c. le 4 ^e j., soit : 4 c.c.	12 jours	5 jours.	"	"	"	Séro-réaction de Vidal positive à 1/100.
II.	10 ^e jour.	1 c.c. les 10 ^e et 11 ^e j., 2 c.c. le 12 ^e j., 3 c.c. les 13 ^e et 14 ^e j., soit : 10 c.c.	29 jours	5 jours.	"	V o m i s s e - ments, épistaxis le lendemain de la 2 ^e inject.	"	Id.
III.	11 ^e jour.	1 c.c.	14 jours	1 jour. Améliorat. 2 j. après l'inject.	"	"	"	Id.
IV.	17 ^e jour.	1 c.c. les 17 ^e et 18 ^e j., soit : 2 c.c. 1/2.	23 jours	6 jours.	"	"	"	Id.
V.	13 ^e jour.	3/4 c.c. le 13 ^e j., 1 c.c. le 19 ^e j.	21 jours	7 jours.	"	"	"	Id.
VI.	8 ^e jour.	1 c.c. 1/2 les 10 ^e et 12 ^e j., amélioration très marquée après chaque injection.	13 jours	3 jours.	"	"	"	Id.
VII.	11 ^e jour.	1/2 c.c. le 11 ^e j., 3/4 c.c. le 12 ^e j., 1/2 c.c. le 13 ^e j., 1/2 c.c. le 15 ^e j., 1/4 c.c. le 16 ^e j., soit : 2 c.c. 1/2.	17 jours	6 jours.	"	"	"	Id. Légère réaction au niveau de l'injection le lendemain de la 1 ^{re} (température entre 38°3 et 38°6) et à la 3 ^e (température entre 37°8 et 39°).
VIII.	10 ^e jour.	1/2 c.c. le 10 ^e j., 3/4 c.c. le 12 ^e j., 1/2 c.c. les 16 ^e et 17 ^e j., 1/4 c.c. les 18 ^e , 19 ^e , 20 ^e j., soit : 3 c.c. 1/2.	20 jours	11 jours	"	"	"	Séro-réaction positive à 1/100. Réaction locale après les 1 ^{re} , 2 ^e , 4 ^e injection.
IX.	15 ^e jour.	1 c.c. les 15 ^e et 18 ^e j.	30 jours	4 jours.	"	"	"	Séro-réaction positive à 1/100. Réaction locale vive avec rougeur et douleur après la 1 ^{re} injection.
X.	9 ^e jour.	3/4 c.c.	Chute de température de 1°4 et re-	1 jour.	"	"	"	Séro-réaction positive à 1/100.

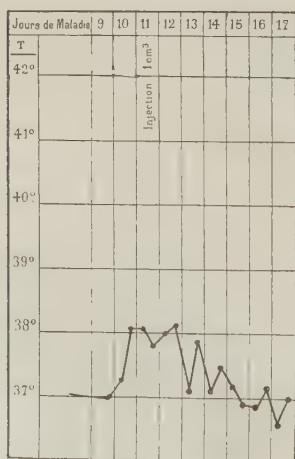
XIII.	7 ^e jour.	1/2 c.c.		14 jours	1 jour.	"	"	"	Id. Amélioration très considérable à dater du 10 ^e jour. Séro-réaction positive à 1/100. Réaction locale après les 3 premières injections.
XIV.	22 ^e jour.	3/4 c.c.		24 jours	1 jour.	"	"	"	Id.
XV.	18 ^e jour.	1/2 c.c. le 18 ^e j., 1/2 c.c. le 19 ^e j., 22 ^e , 23 ^e , 1/4 c.c. les 21 ^e , 22 ^e , 23 ^e , et 26 ^e j., soit : 1 c.c. 3/4.		37 jours	9 jours.	"	"	"	Id.
XVI.	17 ^e jour.	1 c.c.		49 jours	1 jour.	"	"	"	Séro-réaction positive à 1/100.
XVII.	7 ^e jour.	1 c.c.		47 jours	1 jour.	"	"	"	Id.
XVIII.	9 ^e jour.	1/2 c.c.		46 jours	1 jour.	"	"	"	Id.
XIX.	10 ^e jour.	1/2 c.c. le 10 ^e j., 1/2 c.c. le 11 ^e j.		22 jours (apyrexie)	2 jours.	"	"	"	Id.
XX.	12 ^e jour.	1/2 c.c. le 12 ^e j., 1/4 c.c. le 13 ^e j.		31 jours	2 jours.	"	"	"	Amélioration sensible de l'état général après la 2 ^e injection.
XXI.	11 ^e jour.	1/4 c.c. les 11 ^e et 13 ^e j.		45 jours (apyrexie)	2 jours.	"	"	"	Séro-réaction positive à 1/100.
XXII.	14 ^e jour.	1 c.c. les 14 ^e , 23 ^e et 27 ^e j.		29 jours	43 jours.	"	"	"	Id.
XXIII.	32 ^e jour.	1 c.c.		40 jours (apyrexie)	1 jour.	"	"	"	Id.
XXIV.	14 ^e jour.	1 c.c. les 14 ^e et 15 ^e j., 1/2 c.c. le 17 ^e j., 1 c.c. le 21 ^e j., soit : 3 c.c. 1/2.		41 jours	8 jours.	"	Hémorragie intestinale le 31 ^e jour.	"	Hémorragies abondantes des gencives, hémophilie à la première recuite. Séro-diagnostic positif à 1/400.
XXV.	15 ^e jour.	1 c.c. les 15 ^e , 23 ^e , 28 ^e et 33 ^e j.		34 jours (apyrexie)	"	"	Pulbélite de la fémorale.	"	Id.
XXVI.	10 ^e jour.	1 c.c.		"	"	"	"	"	Id.
XXVII.	7 ^e jour.	3/4 c.c. le 7 ^e j., 1/2 c.c. le 9 ^e et 11 ^e j., 1 c.c. le 14 ^e j.		"	"	"	Hémorragies intestinales les 22 ^e et 27 ^e jours.	"	Forme ataxo-adynamique très grave d'emblée. Purpura, larges plaques ecchymotiques superficielles et profondes au membre inférieur droit et au gros orteil gauche, 48 heures avant la mort.
XXVIII.	15 ^e jour.	1/2 c.c. les 15 ^e et 16 ^e j.		"	2 jours.	"	"	"	Forme délirante extrêmement grave.

dans laquelle une injection de virus sensibilisé faite le 7^e jour détermina une amélioration considérable le 10^e et la guérison le 14^e jour de la maladie ; l'observation XVIII où une injection de virus sensibilisé pratiquée le 9^e jour entraîna la guérison le 16^e.

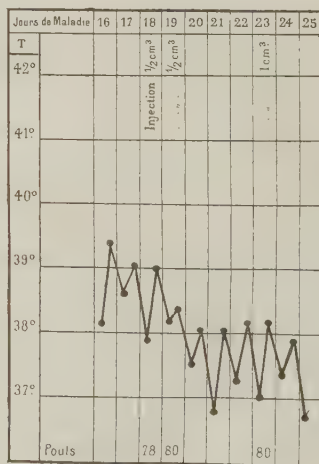
Réaction locale. — Elle s'est produite au niveau de l'injection dans les observations VII (guérison le 17^e jour), VIII (guérison le 20^e jour), XII (guérison le 20^e jour) ; elle est considérée comme d'un bon pronostic ; cependant elle fut vive dans un cas rapidement mortel, à forme délirante (observation XXVIII) et légère, après la 2^e injection, dans le cas XXVII suivi de mort le 29^e jour.

Température. — L'action du virus sensibilisé de Besredka sur la température des typhiques guéris de la seconde série a été la suivante :

Dans l'observation I, après les injections de 4 cent. cubes de virus sensibilisé commencées le 7^e jour (1 cent. cube), continuées le 9^e (1 cent. cube), le 11^e jour (2 cent. cubes), l'apyrexie se manifesta le 12^e jour. Dans l'observation III, la convalescence



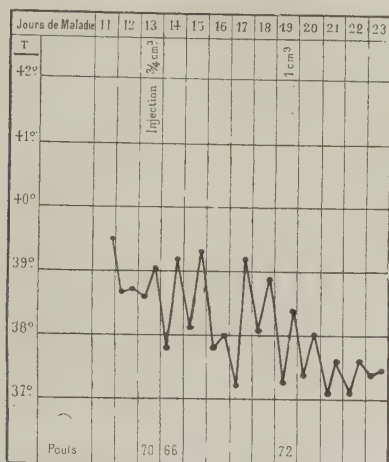
Obs. III'.



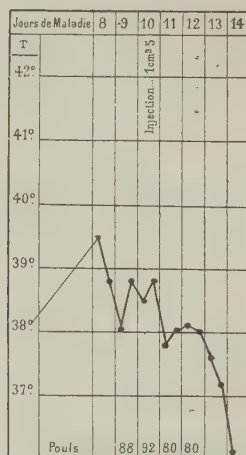
Obs. IV'.

se produisit 5 jours après une injection de virus sensibilisé (1 cent. cube), faite au 11^e jour de la maladie.

On voit dans l'observation VI la courbe tomber à la normale 2 jours après une seconde injection [de 1 cent. cube 1/2 de



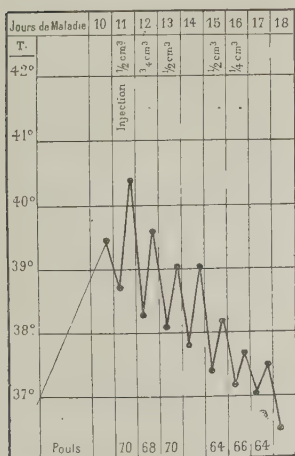
OBS. V'.



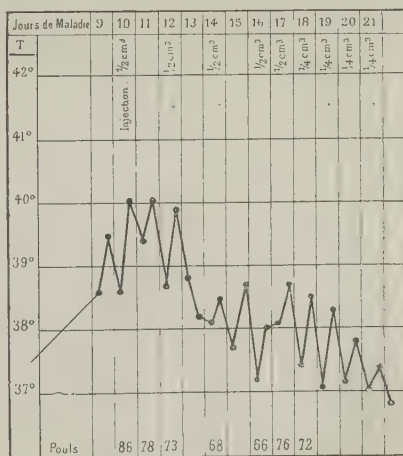
OBS. VI'.

virus sensibilisé et la convalescence survenir au 13^e jour.

La guérison arriva le 17^e jour dans l'observation VII après



OBS. VII'.



OBS. VIII'.

5 injections [de petites quantités de virus sensibilisé représentant 2 cent. cubes 1/2 et commencées le 14^e jour. Dans l'observation VIII, [3 cent. cubes 1/4 de virus sensibilisé injectés en

de diminution notable de la tension, de faiblesse et d'irrégularité cardiaques ou ayant entraîné des complications, telles que l'hémorragie intestinale, la perforation intestinale, la cholécystite. Les contre-indications et les complications doivent faire renoncer à ce traitement vaccinothérapique.

Il sera utilement associé à la médication adjuvante classique : bains tièdes, spartéine (de 0,05 à 0,10 centigrammes par jour), adrénaline, XX gouttes par jour, urotropine, etc., suivant les indications cliniques.

En somme, ce traitement vaccinothérapique de la fièvre typhoïde a donné 47 guérisons; il a été impuissant dans 7 cas de fièvre typhoïde à forme ataxo-adynamique délirante, hyperthermique entrés dans le service dans un état désespéré.

Pour avoir un terme de comparaison, nous avons fait relever les cas de fièvre typhoïde traités, en 1913, à l'Hôtel-Dieu de Marseille, dans les trois services de médecine, par la méthode classique ordinaire. On compte 303 cas de fièvre typhoïde guéris, et 67 décès. Cette mortalité de 22 p. 100 tient à ce que l'on ne reçoit, faute de place souvent, que les typhiques graves (1).

De plus, la fièvre typhoïde a déterminé dans un seul service 16 décès répartis ainsi : par hémorragie intestinale, 4; par perforation intestinale, 2; par forme ataxo-adynamique, 7; par complications méningées, 2; par mort subite, 1.

La durée des 63 cas guéris par le traitement classique a été dans 4 cas (17, 19, 21, 21 jours); dans 10 cas (22, 22, 23, 24, 24, 25, 27, 28 jours trois fois); dans 24 cas (30 jours, 7 fois; 34 jours, 2 fois; 35 jours, 2 fois; 36 jours, 9 fois; 37, 38 jours, 3 fois); dans 19 cas (41 jours, 6 fois; 42, 43, 44 jours, 2 fois; 45 jours, 3 fois, 46, 48 jours, 3 fois, 50 jours, 2 fois).

Enfin, 6 cas ont exceptionnellement duré 60 jours, 2 fois, 77, 87, 99, 118 jours avec diverses complications et rechutes.

En résumé, ces chiffres comparatifs montrent les bons effets du traitement de la fièvre typhoïde par le virus sensibilisé de Besredka, quand il est appliqué d'une façon précoce, prudente et judicieuse.

(1) La fièvre typhoïde est fréquente et grave à Marseille, puisque la statistique municipale porte, pour 1913, 1.791 cas de fièvre typhoïde et 293 décès (soit une proportion de 17 p. 100 de mortalité). Ces chiffres montrent la nécessité de la vaccination préventive.

ÉTUDES SUR LA RICINE

III. — HYPERSENSIBILITÉ A LA RICINE

par E. ALILAIRE.

L'abrine détermine, chez l'homme, une inflammation oculaire bien connue, *après incubation*, quand on la dépose sur la conjonctive. On peut affirmer que la ricine agirait de même, mais avec moins d'intensité (il en va ainsi chez les animaux). Or nous jouissons du singulier privilège de réagir, violemment et *sans incubation*, à des traces de ricine. Ce *cas personnel d'hypersensibilité* nous a paru mériter d'être signalé.

Voici en quoi consistent les accidents. Lorsque l'on débouche, au loin et sans nous prévenir, un flacon contenant de la ricine sèche, *a fortiori* quand nous inhalons des traces de cette toxine, apparaissent presque immédiatement des *symptômes identiques à ceux de la fièvre des foins*.

Tout d'abord, c'est un picotement à l'angle interne des yeux, accompagné de photophobie et suivi de rougeur et d'œdème des conjonctives, ainsi que d'une abondante sécrétion lacrymale. En même temps, démangeaisons intranasales, éternuements violents et répétés, sensation d'obstruction, puis véritable flux séro-muqueux. Très souvent, un accès d'asthme type se surajoute au catarrhe oculo-nasal (toux, dyspnée expiratrice, anxiété précordiale); très souvent, aussi, une éruption ortiée envahit la face et le cou, avec formation de vésicules au bord des lèvres.

Si nous déposons, sur le dos de la main et sans frotter, une trace de la solution glycinée de ricine (employée dans les expériences de MM. Nicolle et Cesari), nous éprouvons, très vite, une démangeaison intense, suivie de l'apparition d'une rougeur et d'une plaque urticarienne. Même résultat, si nous coupons en deux une graine de ricin et que nous appliquons la surface de section sur la peau.

Notre *hypersensibilité* est donc *typique*. Des traces d'une « toxine à incubation » déterminent, chez nous, des accidents violents et immédiats. Comme les personnes atteintes de fièvre des foins, nous n'avons aucune phase d'immunité, même temporaire; comme elles, nous bénéficions de l'antitoxine spécifique. Le sérum antiricinique, préparé par Truche et étudié dans les mémoires précédents, « coupe », en effet, l'attaque aiguë quand on l'introduit, au début, dans les fosses nasales.

Notre *hypersensibilité* doit être considérée comme *acquise*, bien qu'elle se soit développée insidieusement et soit apparue tout d'un coup dans sa plénitude. Durant les années 1907 et 1908, nous avons préparé en grand de la ricine, sans jamais ressentir le moindre symptôme anormal. Nous sommes allé, ensuite, en Amérique pendant un an. A notre retour, nous avons voulu continuer nos recherches et l'éclosion inopinée des accidents décrits plus haut ne l'a pas permis.

Cette hypersensibilité tient-elle au fait que nous sommes sujet à la fièvre des foins? Il est possible qu'une première susceptibilité anormale favorise le développement d'une seconde; c'est même fort admissible. Mais, ainsi que nous l'ont montré les résultats négatifs, obtenus chez plusieurs personnes sujettes à la fièvre des foins, la réaction aux toxines polliniques n'entraîne pas du tout la réaction à la ricine. On sait, d'ailleurs, que les sujets atteints du catarrhe estival ne sont sensibles, naturellement et expérimentalement, qu'aux pollens des graminées (très rarement aux pollens de *solidago* et d'*ambrosia*) et que les sujets atteints du catarrhe automnal ne sont sensibles qu'aux pollens de *solidago* et d'*ambrosia*. Dans le même ordre d'idées, nous mentionnerons que l'application d'abrine ou de crotine sur la peau ne détermine, chez nous, aucune réaction locale. Notre *hypersensibilité* à la ricine est donc bien *spécifique*.

Rappelons, à titre de curiosité, que des accidents, beaucoup plus rares que la fièvre des foins (et reconnaissant aussi vraisemblablement pour cause une sensibilité anormale à des toxines), ont été signalés chez des gens qui s'étaient trouvés en contact, médiateur ou immédiat, avec certaines plantes, notamment les *primévères*. Bornons-nous à citer le fait suivant. Nestler

s'applique, sur la peau, un pétiole de *primula obconica* (primevère de Chine) et voit apparaître une dermite eczématoïde; Dubreuilh ne peut reproduire les mêmes accidents, sur lui-même, ni avec cette variété, ni avec la *primula cortusoïdes* (primevère de Sibérie).

Notons enfin, en terminant, que sur des centaines de personnes, examinées obligeamment par MM. Vallery-Radot et Gutman, aucune n'a réagi à la ricine. L'hypersensibilité à la ricine semble avoir été observée dans les huileries marseillaises, mais les renseignements que l'on nous a fournis sont trop incomplets pour entraîner d'emblée la conviction.

TENEUR BACILLAIRE
ET CONDITIONS DE PULVÉRISABILITÉ DE LA SALIVE
ET DES CRACHATS TUBERCULEUX
PAR LES COURANTS AÉRIENS

par P. CHAUSSE.

(PREMIER MÉMOIRE)

Dans l'historique de la contagion par les particules liquides (1), nous avons rappelé que Nægeli, Nægeli et Büchner, et Wer-nich, ont tenté de déterminer les conditions de pulvérisabilité de certains liquides sous l'influence des courants aériens. De ses recherches Nægeli concluait que « de la surface d'un liquide bactérien l'évaporation, et même le vent fort, ne détachent aucun germe aussi longtemps qu'il n'y a pas formation de vagues et pulvérisation d'une fraction du liquide sous forme de gouttelettes ».

A de légères différences près, Nægeli et Büchner, puis Wer-nich, ont confirmé cette constatation.

Dans son premier mémoire *Sur l'infection de l'air*, publié en 1897 (2), Flügge, opérant avec une dilution de *bac. prodigiosus*, fait arriver à la surface du liquide, sous un angle de 45 degrés, un courant d'air; ce gaz passe ensuite dans des tubes de verre dont la paroi interne est enduite de lévulose stérile destiné à fixer, s'il y a lieu, les germes détachés; le lévulose est dissous etensemencé à la fin de l'expérience. L'auteur constate qu'une vitesse de déplacement de l'air, égale à 4 mètres par seconde, suffit à faire mousser l'eau et à en pulvériser une petite quantité sous forme de gouttelettes transportables. Il se croit autorisé à déduire de cette expérience que, dans les conditions naturelles, les lacs, fleuves et océans laissent se détacher, sous l'action du vent, des particules bactériennes qui sont transportées; il pense aussi que cela est réalisé dans l'habita-

tion bien plus souvent qu'on ne le suppose : quand on verse un liquide dans un autre, quand on lave les parquets, quand un jet liquide rencontre une surface ferme, et enfin *quand on parle, tousse ou éternue*.

A l'appui de cette dernière assertion, Flügge fait connaître qu'un de ses collaborateurs, le D^r Laschtschenko, dans des recherches jusque-là inédites, a pu se rendre compte, en mettant dans sa bouche une dilution de *bac. prodigiosus*, et en parlant, toussant ou éternuant en face de milieux de culture, de la projection de gouttelettes à des distances de plusieurs mètres.

Ce sont ces recherches qui conduisent le savant allemand à émettre prématurément, avons-nous dit, sa théorie de la contagion tuberculeuse par les particules liquides.

Toutefois Flügge ne peut se dérober à la nécessité de reconnaître, car cela est de toute évidence, que « des recherches directes, avec les crachats tuberculeux mêmes, doivent être faites pour savoir si les gouttelettes obtenues par leur pulvérisation sont aussi aisément, ou un peu moins aisément transportables, que celles libérées par une dilution de *bac. prodigiosus* » (page 215). La même année (3), dans une autre publication, il se demande à nouveau, non sans raison, si « les crachats du phthisique, plus consistants que la dilution aqueuse ci-dessus, peuvent donner lieu à une pulvérisation fine ».

Un commencement de preuve, dans le sens de la thèse de Flügge, fut apporté deux ans plus tard, par l'un de ses élèves, déjà cité, le D^r Laschtschenko (4). Ce dernier se proposa de rechercher si le barbotage de l'air, dans des crachats tuberculeux, détache des bacilles. Dans ce but dix parties de crachats furent additionnées d'une à deux parties d'eau, et, par aspiration, on fit passer dans cette dilution, *pendant une heure*, un courant d'air dont la vitesse était de 6 à 10 millimètres par seconde ; l'air traversait ensuite une solution physiologique stérile de NaCl ; l'expérience terminée, on centrifugeait cette solution et on examinait le dépôt *au microscope*. Le résultat de cet examen fut positif cinq fois sur cinq. En répétant trois autres fois la même expérience, avec des crachats non dilués, *pendant deux et quatre heures*, il y eut trois résultats

positifs, dont deux par l'examen microscopique et un par l'inoculation dans le péritoine du cobaye.

Ce sont ces travaux, corroborés par d'autres que nous avons analysés dans l'historique plus complet de cette question, notamment par ceux de Sticher, Beninde, Heymann, Möller, Nenninger, Paul, etc., qui ont servi de base à la théorie de la contagion par les gouttelettes, laquelle est aujourd'hui adoptée par le monde médical. Ne voulant pas entrer dans de nouveaux développements à ce sujet nous prions le lecteur de se reporter, s'il le juge nécessaire, à notre précédent article.

Au cours d'expériences sur la tuberculose par inhalation nous avons constaté, il y a quelques années, que l'interprétation de Flügge ne peut s'accorder avec certaines propriétés des particules liquides et des poussières. C'est alors que nous avons pris connaissance des travaux de cet auteur et de ceux de ses élèves, et il nous est apparu que la théorie de la « Tröpfchen-infection » n'est autre chose qu'une hypothèse, pouvant renfermer sans doute une part de vérité.

Dès ce moment nous nous proposâmes de procéder à de nouvelles investigations pour éclairer si possible les modes et les conditions de la contagion tuberculeuse par inhalation.

Comme recherche préliminaire, avant d'aborder l'étude de la contagion avec le malade, il nous a semblé nécessaire d'acquérir quelques notions sur les conditions de pulvérisabilité de la salive et des crachats tuberculeux, sous l'action des courants aériens, étant donné que ce sont là les deux liquides susceptibles de réaliser la transmission par les gouttelettes.

Mais une question préalable se pose encore : quelle est la teneur bacillaire de la salive ? Le liquide buccal est le moins consistant, le plus pulvérisable, si on le compare au crachat d'origine pulmonaire ; c'est sans doute lui qui sera, si la thèse de Flügge est exacte en totalité ou en partie, le véhicule habituel du contagé ; il est donc utile de rechercher tout d'abord s'il est virulent dans les intervalles de la toux et du crachement, et dans quelle mesure il est dangereux. C'est pourquoi nous examinerons rapidement, en premier lieu, les teneurs bacillaires des crachats et de la salive ; nous nous occuperons ensuite de leurs conditions de pulvérisabilité.

Teneur bacillaire des crachats. — Nous avons indiqué, dans une note précédente (5), une méthode de numération des bacilles dans les crachats ou la matière caséuse : on fait une dilution à un titre connu ; on en étale un poids déterminé sur une surface rectangulaire ; on laisse sécher horizontalement, puis on fixe par la chaleur, et enfin, on colore au Ziehl. La numération des bacilles est faite à l'aide d'un oculaire quadrillé ; un calcul élémentaire donne la teneur en bacilles rapportée au milligramme de produit frais.

Cette méthode nous a permis de nous rendre compte que, chez le phthisique à la troisième période, les teneurs les plus courantes sont de 5.000 à 30.000 bacilles par milligramme de crachats ; chez une partie des malades on peut compter de 30.000 à 100.000, et même 120.000 bacilles par milligramme, et ces chiffres élevés se maintiennent parfois plusieurs mois, et même un ou deux ans, avant l'issue fatale. La richesse des expectorations en bacilles est du reste susceptible de varier en quelques jours chez le même malade. Les tuberculeux que nous avons utilisés pour nos recherches ont été généralement choisis parmi les plus contagieux, c'est-à-dire ceux dont les mucosités étaient les plus riches en bacilles et qui crachaient le plus.

Le danger du crachat sera donc considérable, s'il est divisé et projeté dans l'atmosphère sous une forme respirable. Nous avons déjà montré que ce danger est fort important après dessiccation (6), mais cela ne peut exclure, sans plus ample informé, la possibilité, et peut-être la prééminence de la contagion par les gouttelettes.

Teneur bacillaire de la salive. — La richesse bacillaire de la salive a fait l'objet de recherches de la part de Weyssmayr (1898) (7) ; chez six malades dont les expectorations contenaient l'agent causal en abondance, cet auteur procéda à des examens microscopiques dont voici le résultat sommaire :

Phthisique n° 1 : on a fait 5 préparations de salive sans trouver de bacilles ;

Phthisique n° 2 : 4 préparations de salive, pas de bacilles ;

Phthisique n° 3 : 3 préparations de salive, 1 bacille dans 1 préparation ;

Phthisique n° 4 : 2 préparations de salive, 1 bacille ;

Phthisique n° 5 : 2 préparations de salive, 15 et 24 bacilles ;

Phthisique n° 6 : 3 préparations de salive, 1 bacille.

Examinant simultanément le mucus pharyngien de quelques autres malades, Weyssmayr y décèle également très peu de bacilles de Koch, bien que ceux-ci soient nombreux dans les crachats.

Nous avons récemment procédé à des examens analogues pour la salive de vingt phtisiques pris parmi les plus contagieux; dans des recherches de cette nature, ne visant qu'à une approximation très large, l'examen microscopique s'est montré suffisant pour renseigner.

Il est évident *a priori* que la salive pure ne peut être que très rarement bacillaire; mais la salive buccale est mélangée à tout instant à une proportion variable de mucosités venant des voies respiratoires; sa richesse en bacilles peut donc varier selon le moment où elle sera recueillie, avant ou après l'expectoration, et selon l'abondance de cette expectoration. Si le malade crache peu et rarement le liquide buccal aura le temps de se purifier des bacilles, par déglutition, dans l'intervalle de chaque émission.

Voulant comparer la salive et les crachats tels qu'ils existent dans les conditions ordinaires de la vie du tuberculeux le plus contagieux, au sens de Flügge, nous avons recueilli des échantillons des deux produits sans recommander aucune précaution particulière; il eût été contre-indiqué de prélever de la salive, par exemple, après rinçage de la cavité buccale.

La salive que nous avons obtenue contenait presque toujours des fragments de muco-pus bronchique, visibles à l'œil nu, les malades choisis toussant et crachant beaucoup.

Sur 20 malades, l'examen microscopique fut négatif 13 fois; dans les 7 cas positifs, la quantité de bacilles trouvée dans la salive fut de 120 à 25.000 fois plus faible que dans les crachats des mêmes malades. Il est évident que l'examen microscopique négatif n'exclut pas la virulence. Les sujets chez lesquels nous avons trouvé le plus de bacilles dans la salive, sont généralement décédés peu de temps après; la présence d'un nombre élevé de microbes tuberculeux dans la bouche indique, en effet, nécessairement l'abondance des expectorations et un état général très mauvais qui peut cependant se prolonger plusieurs semaines.

De ceci nous devons conclure que la salive du tuberculeux

dont les expectorations sont riches en bacilles, est *constamment virulente*. Si le malade expectore peu et à intervalles éloignés, ce liquide peut certainement se montrer dépourvu de bacilles de Koch. On peut dire approximativement que la teneur de la salive en bacilles est de 100 à 100.000 fois plus faible que celle des crachats, ce qui en atténue considérablement la nocivité. Il faut considérer aussi que les plus grosses particules respirables, celles de 20 microns de diamètre par exemple, pèsent environ $1/300.000$ de milligramme, tandis que les plus fines pèsent $1/10.000.000$ à $1/20.000.000$ de milligramme; par conséquent la grande majorité des particules salivaires, et les plus dangereuses, si elles se forment dans les conditions naturelles, sont dépourvues de virulence.

Conditions de pulvérisabilité. — Pour connaître la pulvérisabilité par le contact de l'air en déplacement, nous avons employé deux méthodes : la ventilation superficielle et la ventilation profonde ou barbotage.

La ventilation superficielle était pratiquée de la manière suivante : dans un tube-flaconde 27 ou de 35 millimètres de diamètre sur 40 centimètres de hauteur, fermé par un bouchon de caoutchouc à deux orifices, nous déposions environ 20 grammes de crachats; l'un des orifices du bouchon laissait passer un tube de verre en rapport extérieurement avec une soufflerie; ce tube descendait intérieurement presque au contact des crachats,

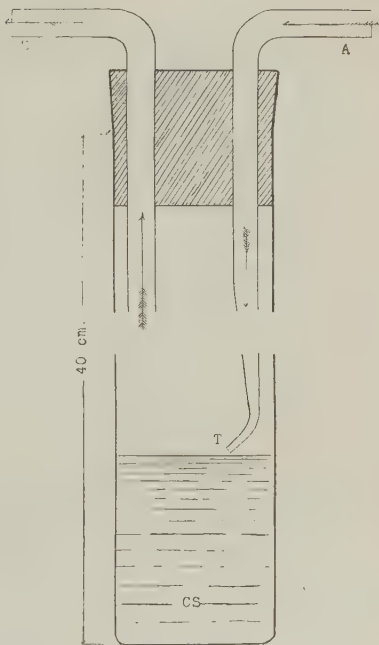


FIG. 1. — Schéma du dispositif employé pour l'épreuve de la ventilation superficielle.

A, tube d'arrivée de l'air fourni par une soufflerie; CS, crachats ou salive bacillaires; T, petit tube amenant l'air, sous un angle de 45 degrés, à la surface du liquide; S, tube de sortie de l'air se rendant dans la caisse à inhalation.

mais, à 15 millimètres de son extrémité, il était coudé à 45 degrés; l'autre orifice donnait passage à un deuxième tube de verre qui s'ouvrait d'une part dans la partie supérieure du tube-flacon et, d'autre part, dans une caisse à inhalation de

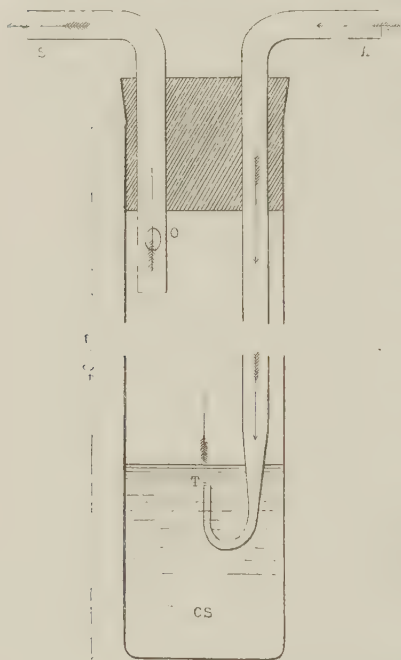


FIG. 2. — Schéma du dispositif employé pour l'épreuve de la ventilation profonde.

A, tube d'arrivée de l'air fourni par une soufflerie; CS, crachats ou salive bacillaires; T, petit tube de sortie de l'air dirigé de bas en haut; S, tube de sortie de l'air, se rendant dans la caisse à inhalation; O, orifice latéral du tube de sortie destiné à empêcher l'obstruction momentanée de ce tube par la projection de gouttes.

topsie ultérieure des cobayes, s'il y avait eu entraînement de particules bacillaires assez fines pour être respirées. L'appareil utilisé pour la ventilation profonde est celui que nous avons décrit sous le nom de pulvérisateur simple (8), mais avec un tube d'arrivée de l'air de diamètre généralement plus élevé.

86 ou de 126 litres contenant des cobayes. La soufflerie étant en marche l'air traversant le premier tube venait frapper les crachats avec force, les déprimait et sortait par le second tube pour se rendre dans la caisse à inhalation; si, dans ces conditions, des particules respirables étaient détachées, elles devaient être inhalées par les animaux d'expérience.

La ventilation profonde était réalisée à l'aide d'un tube-flacon semblable, mais le tube d'arrivée de l'air était recourbé en anse à son extrémité inférieure, de telle sorte que le jet d'air sortait de bas en haut; en faisant plonger cette anse dans la salive ou les crachats, ces liquides étaient fortement agités et pouvaient peut-être, dans ces conditions, libérer des gouttelettes respirables; l'air se rendant directement dans la caisse à inhalation il était possible de savoir, par l'au-

Qu'il s'agisse de ventilation superficielle ou profonde, la vitesse de l'air à l'orifice a été calculée chaque fois d'après le débit de l'air et la section du tube en ce point.

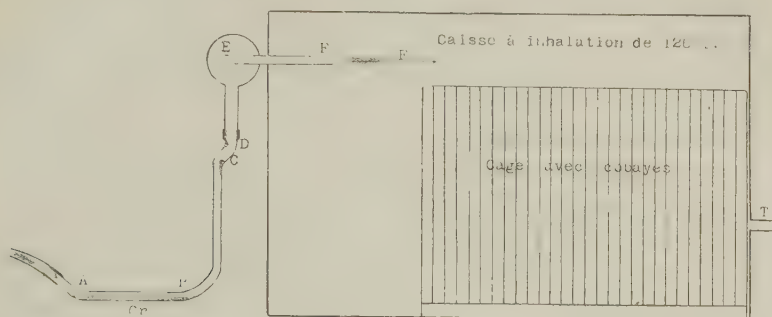


FIG. 3. — Schéma du tube contenant le liquide bacillaire et adapté sur la caisse à inhalation.

So, tube de caoutchouc venant de la soufflerie; CS, tube-flacon contenant les crachats ou la salive; F, direction du jet d'air ayant été en contact avec le liquide; T, tube de décompression de la caisse, obturé avec un tampon de coton très peu serré. (La figure représente la projection de tout l'appareil sur un plan horizontal.)

Pulvérisabilité de quelques liquides. — Un certain nombre d'essais réalisés avec divers liquides nous avaient déjà montré que la pulvérisabilité est en raison inverse de la viscosité.

La pulvérisabilité des solutions colorées dont nous nous sommes servi pour l'étude de la morphologie, du temps de suspension et de la respirabilité des particules (10) était à peu près égale à celle de l'eau. Celle des dilutions de crachats employées pour les infections par inhalation et l'étude du temps de suspension était sensiblement égale.

Le pulvérisateur de Richardson pouvait permettre quelques comparaisons. Pour les solutions colorées, le liquide d'ascite, le sérum, la vitesse minima de l'air exigée pour pulvériser avec l'appareil de Richardson était de 60 mètres par seconde; pour la salive mixte, cette vitesse minima était de 90 à 100 mètres; pour la glycérine, il fallait une vitesse minima de 150 mètres, et, même dans ces conditions, la division ne s'effectuait qu'en très petite quantité.

Mais, pour les liquides très visqueux, nous ne pouvions faire des essais comparatifs qu'avec le pulvérisateur simple. La

vitesse nécessaire pour pulvériser les liquides précédents, avec ce dernier appareil, est moins grande qu'avec le pulvérisateur de Richardson, mais elle est encore de 40 à 60 mètres. On s'assure qu'une fraction du liquide est pulvérisée en le colorant et en plaçant à la sortie du tube une feuille de papier ou une lame de verre chaude qui recueille les particules et permet de les examiner; on obtient ainsi des gouttelettes qui ont de 2 à 60 microns de diamètre.

On peut préparer avec la graine de lin un liquide mucilagineux ayant la consistance des crachats, et il est possible de le colorer. Si l'on fait des essais avec ce mucilage épais, on constate qu'il est très difficile d'en pulvériser une petite fraction, bien que le liquide mousse et crépite fortement. Avec une vitesse de 100 mètres au moins, on peut arriver à recueillir à la sortie quelques particules colorées de 2 à 5 microns de diamètre, et le débit est d'environ $1/100$ à $1/50$ de milligramme à la minute. Le mucilage que nous avons employé était d'une consistance un peu moindre que celle des crachats, et nous avons cru qu'il y avait en réalité division de quelques portions de liquide coloré imparfaitement incorporé à la masse.

Ces quelques essais nous montrent déjà que la viscosité constitue un obstacle à la pulvérisation; mais il faut expérimenter avec les crachats et la salive pour arriver à des conclusions intéressantes à l'égard de la contagion tuberculeuse.

Pulvérisabilité des crachats tuberculeux. — Les expériences I à III inclusivement sont faites par ventilation superficielle; les suivantes se rapportent à la ventilation profonde.

Exp. I. — Cette expérience est faite avec le dispositif indiqué plus haut. La section inférieure du tube d'arrivée de l'air est de 4^{mm} 40; le débit d'air de 392 cent. cubes à la seconde, ce qui donne à l'orifice une vitesse d'environ 90 mètres par seconde. Le tube de sortie a une section à peu près triple; la vitesse de l'air s'y trouve donc être de 30 mètres environ; ce dernier tube pénètre dans notre caisse à inhalation de 86 litres dans laquelle se trouvent 8 cobayes. La caisse métallique est fermée par une gouttière contenant de l'eau; la décompression s'effectue par un tube latéral de 4 centimètres de diamètre, lequel est bouché par un tampon de coton très peu serré.

Nous mettons dans le tube-flacon 20 grammes de crachats muco-purulents, contenant 62.000 bacilles par milligramme, et nous y faisons passer 125 litres d'air en 5 minutes environ.

Les cobayes inhalent cet air pendant 3 h. 40; mais 3 de ces animaux

meurent d'asphyxie; les 5 survivants, sacrifiés après 37 jours, sont *parfaitement sains* et en bon état général.

Exp. II. — Effectuée avec le même appareil contenant des mucosités nummulaires, mélangées de salive, d'un second malade; ces mucosités renferment 70.000 bacilles par milligrammes. Nous y faisons passer, dans les mêmes conditions, la même quantité d'air; durant l'expérience, nous nous apercevons que l'air pénètre dans le liquide muco-purulent, le fait mousser, et que des bulles éclatent.

7 cobayes subissent l'inhalation pendant 3 heures. Sacrifiés 35 jours plus tard, ces animaux sont *indemnes de tuberculose*.

Exp. III. — Nous employons la même méthode avec la caisse 126 à inhalation, et nous nous servons de 20 grammes de crachats d'un troisième malade; ces mucosités sont de même aspect nummulaire et contiennent 63.500 bacilles par milligramme. Nous y faisons passer 150 litres d'air en 6 minutes environ. L'appareil étant en marche, l'air déprime la surface du liquide bacillaire et pénètre jusqu'au fond du tube.

Les cobayes respirent cet air pendant 3 h. 30 minutes. Sacrifiés 37 jours plus tard, 6 animaux sur les 7 sont *parfaitement sains*; le 7^e présente un *tubercule pulmonaire primitif* avec adénopathie caséuse.

Exp. IV. — Cette expérience et les suivantes sont effectuées par ventilation profonde.

Dans un tube large de 18 millimètres, haut de 18 centimètres, nous avons mis 17 grammes de crachats frais, muco-purulents, contenant 90.000 bacilles par milligramme, provenant d'un quatrième malade. Ce tube étant adopté sur la caisse de 126 litres contenant 10 cobayes, nous avons fait traverser ces crachats par 200 litres d'air. Le diamètre du tube plongeant dans les mucosités était tel que la vitesse de l'air à la sortie de ce tube fut de 15^m60 à la seconde; pendant l'expérience, le liquide était fortement agité; de temps à autre, un fragment atteignait le tube de sortie et était entraîné dans la caisse à inhalation.

Les 200 litres d'air furent introduits par fractions de 50 litres, d'heure en heure, et les cobayes inhalèrent pendant 5 h. 40 minutes.

Tués 36 jours après l'expérience, tous ces animaux étaient en excellente santé et ne présentaient *aucune trace de tuberculose*.

Exp. V. — Dans un tube-flacon de 35 millimètres de largeur sur 40 centimètres de hauteur, nous mettons 70 grammes de crachats muco-purulents

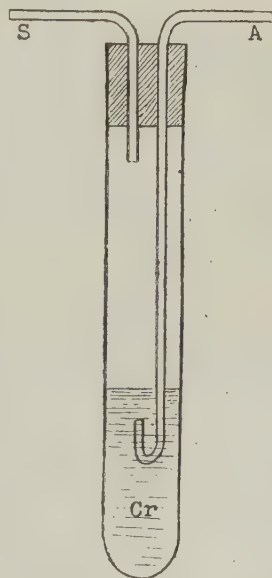


FIG. 4. — Dispositif employé pour l'expérience IV.

A, tube d'arrivée de l'air;
S, tube de sortie de cet air;
Cr, crachats tuberculeux.

d'un autre malade; ces mucosités contenaient 73.000 bacilles par milligramme; le tube fut adapté sur la caisse 126. La vitesse de l'air, à l'orifice du tube d'arrivée, était de 20 mètres par seconde, et le débit était de 11 à 12 litres à la minute; nous fîmes passer en une seule fois 104 litres d'air. 6 cobayes inhalèrent pendant 2 heures; sacrifiés 35 jours plus tard, ils étaient sains.

Pendant cette expérience et les suivantes, nous avons constaté que les crachats étaient fortement agités et qu'ils étaient transformés en quelques minutes en une sorte de purée homogène.

Exp. VI. — Identique à la précédente, elle est faite avec les mêmes crachats déjà homogénéisés. Il passe dans l'appareil 112 litres d'air que 6 cobayes inhalent pendant 2 heures; ces animaux sont tués 35 jours plus tard et reconnus sains.

Exp. VII. — Exécutée avec le même produit pathologique, et le même appareil, mais en portant la vitesse de l'air à 35 mètres par seconde. Nous faisons passer 100 litres d'air que les 6 cobayes utilisés inhalent pendant 2 heures; sacrifiés 35 jours plus tard, ces animaux ne sont pas tuberculeux.

Exp. VIII. — Identique à la précédente et exécutée avec le même produit depuis longtemps complètement homogénéisé. 100 litres d'air barbotent d'un seul trait dans ce liquide; 6 animaux inhalent pendant 2 heures; sacrifiés 35 jours plus tard, 5 sont indemnes; le sixième présente un *tubercule pulmonaire primitif*.

Exp. IX. — Réalisée avec un tube-flacon de 27^{mm}5 de diamètre sur 37 centimètres de hauteur. Il y a dans le flacon 45 grammes de mucosités d'un autre malade; la vitesse calculée de l'air est de 36^m50 par seconde; les crachats contiennent 61.000 bacilles par milligramme; dans la caisse à inhalation de 126 litres se trouvent 8 cobayes; nous faisons passer 120 litres d'air que les animaux inhalent pendant 4 heures. Sacrifiés 37 jours plus tard, 7 cobayes sont sains; le huitième présente un *tubercule pulmonaire* avec adénopathie caséuse correspondante.

Exp. X. — Même dispositif et même vitesse de l'air, avec les crachats d'un autre malade. Il y a dans le flacon 40 grammes de mucosités légèrement purulentes, contenant 70.000 bacilles par milligramme. Nous faisons passer 130 litres d'air; 8 cobayes restent soumis à l'inhalation pendant 3 h. 15 minutes; sacrifiés après 35 jours, ils sont *parfaitement sains*.

Exp. XI. — Mêmes conditions expérimentales avec 60 grammes de crachats d'un autre malade; ces expectorations sont très peu purulentes, surtout muqueuses, et un peu aérées; elles contiennent 62.000 bacilles par milligramme; nous y faisons passer 120 litres d'air. Les cobayes, au nombre de 7, inhalent pendant 3 heures; sacrifiés 37 jours après, ils sont tous en très bon état et *indemnes de tuberculose*.

Exp. XII. — Même dispositif expérimental avec un tube d'arrivée de l'air de diamètre plus faible, pour augmenter la vitesse; 30 grammes de crachats purulents et nummulaires, contenant 120.000 bacilles par milligramme;

10 cobayes dans la caisse à inhalation de 126 litres; vitesse de l'air: 64 mètres par seconde. Les crachats sont fortement agités par le courant d'air et des bulbes éclatent; quelques gouttes sont projetées jusqu'en haut du tube. Nous faisons passer en deux fois 400 litres d'air, que les cobayes inhalent pendant 7 heures. Ces animaux sont sacrifiés 34 à 37 jours après; 7 sont indemnes; 3 ont chacun un tubercule pulmonaire primitif avec adéno-pathie caséuse et lésions de généralisation au début.

Exp. XIII. — Même dispositif. Vitesse réalisée par le courant d'air: 85 mètres par seconde; 75 grammes de crachats muco-purulents contenant 23.000 bacilles par milligramme. Nous faisons passer 264 litres d'air; les cobayes, placés dans la même caisse, sont soumis à l'inhalation pendant 5 heures. Sacrifiés 50 jours plus tard, 5 animaux sont indemnes; 3 sont tuberculeux avec une lésion pulmonaire primitive chacun.

Exp. XIV. — Même manière de procéder. Vitesse du courant d'air: 242 mètres par seconde; 35 grammes de crachats muco-purulents contenant 92.000 bacilles par milligramme. Nous faisons passer une première fois 165 litres d'air que les animaux inhalent pendant 5 h. 30 minutes. 8 jours plus tard, avec 50 grammes de crachats du même malade, et le même appareil, la séance d'inhalation est répétée; cette fois, 200 litres d'air traversent les crachats, et les animaux inhalent pendant 6 heures.

Sacrifiés 36 et 37 jours après la première séance d'inhalation, tous ces animaux, au nombre de 10, sont tuberculeux; ils présentent chacun de nombreuses lésions primitives.

Pulvérisabilité de la salive. — Pour procéder à des recherches sur les conditions de pulvérisabilité de la salive, nous avons recueilli le liquide buccal de 8 tuberculeux cavitaires; chez tous ces malades, l'examen microscopique avait montré de nombreux bacilles; les teneurs des crachats variaient entre 30.000 et 100.000 bacilles par milligramme. Pour obtenir cette salive, nous fîmes remettre à chacun de ces malades un verre, en le priant d'y déposer de la salive et non des crachats; malgré les précautions prises, nous vîmes qu'il y avait dans la plupart des récipients, avec le produit buccal, une quantité variable de muco-pus bronchique.

La salive mixte ainsi recueillie était trouble, grise, épaisse chez tous les sujets, très filante, quelquefois mélangée en outre de débris alimentaires; nous en avions en tout 60 cent. cubes. Il s'agissait là du produit tel qu'il est émis dans les conditions naturelles, et ce liquide mélangé était convenable pour le but que nous nous proposons.

Un examen microscopique pratiqué sur une petite quantité du mélange nous montra qu'il contenait des bacilles.

De même que pour les crachats tuberculeux, nous avons procédé à deux sortes d'épreuves : la ventilation superficielle et la ventilation profonde.

Exp. XV. — Les deux premières expériences se rapportent à la ventilation superficielle ; le dispositif est semblable à celui utilisé par les crachats ; la salive est déposée dans un tube-flacon de 35 millimètres de diamètre sur 45 centimètres de hauteur ; le tube d'arrivée de l'air fait un angle de 45 degrés avec la surface du liquide ; l'appareil est adapté sur la caisse 126 à inhalation, où se trouvent 6 cobayes. Quand on fait marcher la soufflerie, l'air arrive sur le liquide à une vitesse de 50 mètres par seconde, déprime ce liquide et y pénètre en formant des bulles qui éclatent. En 7 minutes, nous faisons passer 100 litres d'air ; à la fin, le liquide, qui contenait quelques fragments de crachats, est homogénéisé ; son agitation a été beaucoup plus forte que dans la bouche.

Les cobayes inhalent cet air pendant 1 h. 30 minutes. Ils sont sacrifiés 35 jours plus tard et *reconnus sains*.

Exp. XVI. — Même matériel et même produit salivaire. La partie inférieure du tube d'arrivée de l'air est simplement changée pour augmenter la vitesse. 6 cobayes sont dans la caisse de 86 litres sur laquelle le tube-flacon est adapté. Nous faisons passer 100 litres d'air à la vitesse de 80 mètres par seconde, et les animaux inhalent pendant 1 h. 30 minutes ; sacrifiés 36 jours plus tard *tous sont parfaitement sains*.

Exp. XVII. — Dans cette expérience et les suivantes, nous avons opéré par ventilation profonde, c'est-à-dire par barbotage de l'air dans le même tube de salive ; ce tube contenait un liquide complètement homogénéisé par les deux premières épreuves, et de viscosité diminuée ; les conditions devenaient donc de plus en plus favorables au détachement de particules liquides.

Nous faisons passer 100 litres d'air à une vitesse de 20 mètres par seconde ; 8 cobayes inhalent pendant 1 h. 45 minutes ; sacrifiés 36 jours plus tard, *aucun de ces animaux n'est atteint de tuberculose*.

Exp. XVIII. — Après changement du tube d'arrivée de l'air, de manière à réaliser une vitesse de 35 mètres par seconde, le même tube-flacon est adapté sur la caisse 126, dans laquelle se trouvent 7 cobayes ; 100 litres d'air traversent le liquide et les animaux inhalent pendant 1 heure 45 minutes ; morts ou sacrifiés après 23, 23, 30, 36, 36, 36 et 36 jours, *aucun d'eux n'est atteint de tuberculose*.

Exp. XIX. — Nouveau changement du tube d'arrivée de l'air, de telle sorte que la vitesse à l'orifice est portée à 55 mètres par seconde ; l'appareil est adapté sur la même caisse désinfectée. 100 litres d'air traversent le liquide, et l'on remarque que ce liquide est projeté en gouttes jusqu'en haut du flacon pendant la marche de l'expérience. 7 cobayes inhalent pendant 1 heure 45 minutes ; morts ou sacrifiés de 27 à 35 jours après, *2 de ces animaux sont tuberculeux* avec chacun une lésion pulmonaire primitive et des tubercules récents dus à la généralisation.

Exp. XX. — Même façon d'opérer avec la caisse de 86 litres ; la vitesse est portée à 80 mètres par seconde et nous faisons barboter 100 litres d'air en présence de 6 cobayes ; pendant cette opération, le liquide est projeté en gouttes jusqu'en haut du tube. Les 6 cobayes inhalent pendant 1 heure 35 minutes ; sacrifiés après 41 jours, *ils sont reconnus sains*.

Exp. XXI. — Même produit salivaire avec la caisse de 126 litres ; la vitesse réalisée est de 150 mètres par seconde ; 6 cobayes sont dans la caisse. Nous faisons traverser la salive par 100 litres d'air ; l'appareil fonctionne en crépitant et il projette un grand nombre de gouttelettes qui amènent une baisse de niveau du liquide ; la pulvérisation cesse alors pendant un instant très court, jusqu'à ce que la chute des particules ait rétabli le niveau minimum nécessaire ; le tube pulvérisant est ainsi dans les meilleures conditions pour faire la division fine.

Les 6 cobayes inhalent pendant 1 heure 35 minutes ; sacrifiés 41 jours plus tard, 3 animaux sur les 6 sont tuberculeux et présentent chacun 1, 1 et 2 tubercules primitifs avec des lésions récentes de généralisation.

Exp. XXII. — Cette dernière expérience est faite pour s'assurer de la nocivité du liquide qui a servi pour les sept épreuves précédentes. Après ces divers essais, la salive est uniformément trouble ; c'est un mélange intime de crachats et de salive mixte. L'examen microscopique pratiqué une autre fois y montre quelques bacilles ; le nombre en est estimé approximativement à 600 par milligramme.

Pour savoir jusqu'à quel point la pulvérisation de ce liquide est dangereuse, nous en prélevons une goutte pesant 60 milligrammes et cette goutte est additionnée d'eau de façon à faire 1 cent. cube ; ce produit est pulvérisé dans la caisse 86, avec un petit pulvérisateur angulaire, en présence de 5 cobayes ; la pulvérisation demande à peine 30 secondes.

Sacrifiés 30 jours plus tard, les 5 animaux présentent en moyenne 9 tubercules pulmonaires primitifs chacun, ainsi que des lésions de généralisation récente.

Le produit soumis aux épreuves de ventilation superficielle ou profonde était donc assez fortement bacillaire.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

Le tableau récapitulatif ci-après permet de revoir rapidement le résultat de toutes les épreuves.

1° Avec les crachats. — La ventilation superficielle, avec une vitesse de 90 mètres par seconde, sous un angle de 45 degrés, ne détache en général aucune particule bactérienne ; sur 3 expériences ainsi faites, 2 ont été complètement négatives, et la troisième, comprenant 7 cobayes, a réalisé l'infection d'un seul sujet avec un tubercule primitif, pour 125 litres d'air ayant passé dans les mucosités virulentes.

TABLEAU RÉCAPITULATIF

EXPÉRIENCES	MALADE	VITESSE de l'air par seconde, en mètres.	QUANTITÉ d'air ayant passé dans l'appareil.	NOMBRE de cobayes survivants ayant inhalé cet air.	NOMBRE DE COBAYES	
					Sains.	Tuberculeux.
I. — Crachats : <i>Ventilation superficielle.</i>						
1	1	90 m. »	125 litres.	7	7	0
2	2	90 m. »	125 —	5	5	0
3	3	90 m. »	150 —	7	6	1
II. — Crachats : <i>Ventilation profonde.</i>						
4	1	15 m. 60	200 litres	10	10	0
5	2	20 m. »	104 —	6	6	0
6	3	20 m. »	112 —	6	6	0
7	4	35 m. »	100 —	6	6	0
8	5	35 m. »	100 —	6	5	1
9	6	36 m. 50	120 —	7	7	0
10	7	36 m. 50	130 —	8	8	0
11	8	36 m. 50	120 —	8	7	1
12	9	64 m. »	400 —	10	7	3
13	10	85 m. »	264 —	8	5	3
14	11	242 m. »	365 —	10	0	10
III. — Salive : <i>Ventilation superficielle.</i>						
15	1	50 m. »	400 litres.	6	6	0
16	2	80 m. »	100 —	6	6	0
IV. — Salive : <i>Ventilation profonde.</i>						
17	1	20 m. »	100 litres.	8	8	0
18	2	35 m. »	100 —	7	7	0
19	3	55 m. »	100 —	7	5	2
20	4	80 m. »	100 —	6	6	0
21	5	150 m. »	100 —	6	3	3
				150	126	21
<i>Remarque.</i> — A part les cobayes de la série 14. qui ont été tuberculisés à un haut degré, tous les sujets tuberculeux présentaient l'infection minima, c'est-à-dire un seul tubercule pulmonaire primitif.						

Sur cinq expériences, avec les vitesses de 15, 20 et 35 mètres, le barbotage, ou ventilation profonde, nous a donné un seul résultat positif pour 34 cobayes et 616 litres d'air. De trois autres expériences faites avec une vitesse de 36^m50, deux ont été complètement négatives ; la troisième, comprenant 7 cobayes, a donné un tuberculeux, avec un tubercule primitif, pour 120 litres d'air ayant traversé les expectorations bacillaires.

Avec les vitesses de 64 et de 85 mètres par seconde, nous avons eu 6 cobayes infectés, chacun avec un tubercule pulmonaire, sur 18 animaux soumis à l'inhalation, pour 400 et 264 litres d'air !

Enfin, en employant des courants d'air de vitesse encore plus considérable, il se détache suffisamment de particules pour tuberculiser tous les cobayes.

En résumé, *pour des vitesses inférieures à 35 mètres par seconde, le crachat tuberculeux est très difficilement pulvérisable ; il ne laisse détacher en général aucune particule susceptible d'être inhalée.*

Il convient d'insister sur ce point que les conditions de nos expériences ont été particulièrement sévères. Ces conclusions s'appliquent *a fortiori* au muco-pus bronchique, dont la consistance est un peu plus grande que celle des crachats, ces derniers étant mélangés de salive.

2° *Avec la salive.* — Deux expériences de ventilation superficielle, aux vitesses de 50 et 80 mètres par seconde, ont donné des résultats négatifs. 3 expériences de ventilation profonde, avec les vitesses de 20, 35 et 80 mètres par seconde, n'ont également infecté aucun animal ; une expérience à la vitesse de 55 mètres a réalisé l'infection de 2 animaux sur 7 ; et une expérience à la vitesse de 150 mètres a donné 3 tuberculeux sur 9.

Nous devons donc déduire de ces recherches que *la salive, même dans les conditions sévères où nous nous sommes placés, est très difficilement pulvérisable*, et que les vitesses courantes de 10 à 30 mètres par seconde ne détachent pas de particules bacillaires fines quand on procède par barbotage. La ventilation superficielle est sans effet avec une vitesse supérieure à 50 mètres par seconde. Nous avons d'autre part noté que, malgré la production de nombreuses gouttelettes dans le tube-flacon, l'infection est rarement réalisée avec les vitesses employées ; par conséquent, la plupart de ces gouttelettes sont trop volumineuses pour être transportées puis inhalées, et celles qui sont fines ne contiennent généralement pas de bacilles, car notre dernière expérience de contrôle démontre l'infectiosité de ce même liquide quand il est pulvérisé finement.

Ces résultats ne suffisent pas, assurément, à la réfutation de l'hypothèse de Flügge ; ils nous montrent seulement que les

mucosités bronchiques et la salive sont beaucoup plus difficilement pulvérisables que ne le supposèrent cet auteur et ses élèves. Il est sans doute possible, avec les courants d'air les plus faibles que nous ayons utilisés, de détacher de ces liquides des particules grossières qui iraient polluer un liquide stérile placé à proximité; mais on en détachera avec beaucoup de peine des particules assez fines pour être respirables, et c'est ce qui nous importe le plus.

Pour émettre une opinion définitive, en ce qui concerne la contagion interhumaine par inhalation de gouttelettes, il est indispensable de procéder à d'autres investigations.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

(1) P. CHAUSSÉ. — La contagion de la tuberculose par les particules liquides (histoire et critique de la théorie de Flügge). *Revue d'hygiène*, 20 juin 1913.

(2) FLÜGGE. — Ueber Luftinfektion. *Zeitschrift für Hygiene*, vol. XXV, p. 179, 1897.

(3) FLÜGGE. — Ueber die nächsten Aufgaben zur Erforschung der Verbreitungsweise der Phtisie. *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 14 octobre 1897, p. 665.

(4) LASCHTSCHENKO. — Ueber Luftinfektion durch beim Husten, Niesen und Sprechen verspritzte Tröpfchen. *Zeitschrift für Hygiene*, 1899, vol. XXX, p. 125.

(5) P. CHAUSSÉ. — Sur la teneur des produits pathologiques en bacilles tuberculeux. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 16 avril 1910.

(6) P. CHAUSSÉ. — Transmissibilité de la tuberculose par brossage de vêtements souillés. *Comptes rendus de l'Acad. de Médecine*, 13 mai 1913; *Revue d'hygiène*, 20 mai 1913. — Transmissibilité de la tuberculose par agitation de linges souillés. *Comptes rendus de l'Acad. de Médecine*, 22 juillet 1913; *Revue d'hygiène*, 20 septembre 1913.

(7) WEISSMAYR. — Zur Frage der Verbreitung der Tuberkulose. *Wiener klin. Wochenschrift*, 1898, n° 46.

(8) P. CHAUSSÉ. — Méthodes à employer pour réaliser la tuberculose expérimentale par inhalation. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 13 mai 1913; *Bull. de la Soc. centrale de médecine vétérinaire*, 30 juillet 1913.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LES RÉACTIONS ANAPHYLACTIQUES
PRODUITES PAR LES ALBUMINOÏDES DU CRISTALLIN

par V. MORAX et J. BOLLACK.

Au cours de ces dernières années, on a été amené à attribuer aux matières albuminoïdes du cristallin des propriétés spéciales les différenciant des autres albuminoïdes de l'organisme. Les recherches d'Uhlenhuth sur les sérums précipitants attirèrent l'attention sur les faits suivants : d'une part, en injectant à des lapins du cristallin d'une espèce donnée, on obtient un sérum qui précipite *in vitro*, non seulement les extraits cristalliniens de l'espèce correspondante, mais encore ceux d'autres mammifères, d'oiseaux, d'amphibies ; le cristallin est, d'autre part, le seul organe qui ne donne pas de précipité avec un antisérum préparé avec le sang de l'animal correspondant.

Les albuminoïdes du cristallin semblent donc, dans leurs réactions précipitantes, différer des albuminoïdes du sérum et des autres organes : tandis que ces substances jouissent de propriétés précipitantes spécifiques de l'espèce, le cristallin semble être doué d'une véritable spécificité d'organe.

Ces faits furent confirmés par Rømer, qui décelait les anticorps cristalliniens en utilisant la méthode de la déviation du complément, puis par P. Andrejew à l'aide des réactions anaphylactiques. Après avoir sensibilisé des cobayes par une injection de cristallin d'une espèce étrangère donnée, il provoquait assez régulièrement des symptômes d'anaphylaxie par l'injection déchaînante de cristallin de la même espèce, plus rarement par l'injection de cristallin d'espèces différentes. Les animaux sensibilisés par le cristallin n'étaient, d'autre part, pas anaphylactisés à l'égard du sérum ou d'extraits d'organes des espèces qui avaient fourni le cristallin. Enfin Andrejew montra la sensibilité du cobaye à l'égard de son propre cristallin, lors-

qu'il a été soumis à des injections préparantes de cristallin d'espèces différentes.

Andrejew prouva donc qu'il n'est pas plus possible par les réactions anaphylactiques que par la réaction de précipitation de différencier l'albumine cristallinienne des différentes espèces.

Expérimentant sur le cobaye par la voie intra-oculaire, Krusius admit que l'on peut sensibiliser cet animal par et pour le cristallin de son espèce et même par la résorption de son propre cristallin obtenue par une simple discision de sa capsule. Il montra, en outre, que l'on peut, en partant de l'œil, obtenir une hypersensibilité de tout l'organisme à une substance.

Römer et Gebb contrôlent ces expériences en les reprenant avec plus de rigueur et concluent dans un sens opposé : pour ces expérimentateurs il n'est pas possible de sensibiliser le cobaye par son propre cristallin.

Kapsenberg montre que le cobaye, dans certaines conditions particulières, présente une sensibilité relative à son propre cristallin.

Il semble donc difficile de tirer une conclusion de ces résultats souvent contradictoires : c'est ce qui nous a engagés à reprendre ces expériences en en perfectionnant la technique.

Il importe en effet, lorsqu'on expérimente sur le cobaye, animal de choix pour l'étude des réactions générales de l'anaphylaxie, de ne pas gêner l'observation des phénomènes caractéristiques, par l'adjonction de troubles dus soit à la toxicité propre ou à l'action mécanique de la substance injectée, soit au mode d'introduction de celle-ci. L'on conçoit, par exemple, que l'injection déchainante pratiquée dans le péritoine, dans le cerveau, ou dans le cœur, puisse, sinon tuer le cobaye, du moins déterminer chez lui des troubles graves, des variations thermiques qu'il ne faudrait pas confondre avec les troubles dus à l'anaphylaxie.

Il nous a semblé, d'autre part, que l'on affirmait trop facilement la réalité de l'anaphylaxie en présence de phénomènes légers, sujets à des erreurs d'interprétation tels que le prurit, l'agitation ; ces symptômes n'ont de valeur que s'ils sont associés et l'on ne peut rien conclure de leur existence isolée.

Nous nous sommes donc entourés pour nos expériences, tant dans la préparation des substances à étudier que dans leur

mode d'injection et dans l'observation de phénomènes anaphylactiques, de toute la précision possible. Voici, d'ailleurs, la technique que nous avons suivie :

Animal employé. — Le cobaye nous a paru être l'animal de choix pour l'étude de l'anaphylaxie générale. Les symptômes en sont chez lui beaucoup plus nets que chez le lapin et l'utilité de répéter les expériences en série le rend plus maniable que le chien.

Préparation de la substance cristallinienne. — Les cristallins des divers animaux, cheval, bœuf, mouton, cobaye, sont extraits aseptiquement peu de temps après la mort, après lavage de la conjonctive et cautérisation de la cornée; ils sont séparés de leur capsule et injectés au cobaye à l'état frais ou à l'état sec.

Dans le premier cas, nous avons-essayé d'injecter le cristallin entier sous la peau, mais, ayant observé des nécroses cutanées au niveau du point d'insertion, nous avons préféré le broyer et le délayer dans des proportions convenables d'eau physiologique stérilisée.

Dans le second cas, les cristallins sont desséchés dans le vide sulfurique pendant plusieurs jours, puis broyés au mortier : on obtient ainsi une poudre fine, blanche ou légèrement jaunâtre, pouvant se conserver presque indéfiniment à l'abri de l'air et qu'il est facile d'émulsionner dans la quantité voulue d'eau physiologique, quelques heures avant l'injection. Comme nous avons observé des accidents emboliques à la suite de l'injection intraveineuse immédiate de cette émulsion, nous avons préféré l'agiter auparavant pendant plusieurs heures, puis la laisser au repos à la glacière. Il se forme un léger dépôt; le liquide surnageant opalescent contient des quantités comparables d'albumine cristallinienne et servira à l'injection.

Injection préparante. — La quantité de cristallin injecté au cobaye a varié, suivant les expériences, de 0 gr. 01 à 3 grammes (cristallin frais dans ce dernier cas), en moyenne 0 gr. 025.

L'injection préparante se fait soit sous la peau, mais expose alors parfois chez le cobaye à la production d'abcès ou d'eschares très graves, parfois mortelles, soit plus simplement dans le péritoine, et n'est alors en général suivie d'aucun trouble. Il est inutile d'employer une voie d'absorption plus rapide. Cette différence dans la voie d'introduction de la première injection ne nous a paru influencer en rien l'intensité du choc anaphylactique ultérieur.

Nous n'avons pas employé la voie *intra-oculaire* dans cette série d'expériences, car elle est difficilement praticable chez le cobaye, et les résultats fournis par Krusius, Kümmel, et par quelques expériences personnelles, ne nous ont pas paru démontrer clairement la réalité de la sensibilisation générale, obtenue par voie oculaire. (C'est ainsi que 3 lapins préparés par l'injection, dans la chambre antérieure ou la cornée, de sérum ou d'extrait cristallinien d'une espèce étrangère, ne se sont montrés aucunement sensibilisés à l'injection intraveineuse ultérieure de ces mêmes substances : nous n'avons observé aucun symptôme ni général, ni local.)

Injection déchainante. — Elle est pratiquée en moyenne trois à quatre semaines après l'injection préparante. La substance injectée, lorsqu'il s'agit du cristallin, est la même que celle de la première injection.

La quantité de cristallin frais ou sec employée a varié, suivant les expériences, de 0 gr. 02 à 0 gr. 20 pour 1 cent. cube d'émulsion.

Pour un même animal, elle est plus forte que la dose employée lors de l'injection préparante.

Comme voie d'introduction, nous avons adopté la *veine* de la patte postérieure du cobaye. Celle-ci, visible superficiellement à la face postérieure de la cuisse de l'animal après légère compression de la racine du membre, se prête parfaitement à l'injection : il suffit d'inciser légèrement la peau qui la recouvre et de pénétrer dans le vaisseau avec une aiguille très fine. C'est là le mode d'injection le plus régulier, le plus simple et le moins traumatisant que nous ayons observé.

Une série d'expériences préliminaires nous a montré que cette méthode d'injection est équivalente à l'injection dans la carotide ou la jugulaire pour la production du choc anaphylactique. Nous avons rejeté, après essai, les injections intracardiaques et intracérébrales comme traumatisant trop le cobaye; les injections sous-cutanées, sous-conjonctivales, intrarectales et intrapéritonéales comme donnant des résultats inconstants par suite de la durée variable de l'absorption.

Pour une même dose de substance injectée, la voie veineuse nous a toujours paru donner la réaction la plus nette : c'est ainsi que, chez le cobaye anaphylactisé par le sérum de cheval, l'injection déchainante de 0 cent. cube 5 de sérum est toujours mortelle, dans la veine, alors qu'elle ne détermine que des troubles passagers et de l'hypothermie, si elle est pratiquée sous la peau, dans le rectum, dans le péritoine et même dans le cerveau.

Il nous faut faire une mention spéciale pour l'injection *intra-orbitaire*, qui nous a toujours donné des réactions très intenses et constantes : après anesthésie cocaïnique de la conjonctive, on pénètre avec une très fine aiguille au niveau de la paroi interne de l'orbite et l'on pousse l'injection en arrière du globe ; la richesse vasculaire de l'orbite et la proximité du sinus caverneux font de cette voie l'équivalente de la voie intraveineuse.

Nous avons enfin recherché s'il était possible de déchaîner le choc anaphylactique par l'injection *intra-oculaire*. L'injection pratiquée dans la chambre antérieure ou le vitré ne nous a pas permis d'observer chez le cobaye d'autres manifestations générales que de l'hypothermie variant de 0% à 1%. Ce fait tient sans doute à la quantité relativement faible de liquide que l'on parvient à injecter.

Nous avons également recherché si l'injection déchainante intra-oculaire pouvait, chez le lapin préparé, provoquer une *réaction locale* particulière : 4 lapins furent dans ce but préparés par une injection soit intraveineuse, soit intrapéritonéale, de 0 gr. 20 de cristallin de cheval. Huit semaines plus tard, on leur injecta dans la chambre antérieure après évacuation de l'humeur aqueuse, 0 gr. 005 de la même substance. La même opération fut pratiquée sur 4 lapins témoins neufs. On observa chez tous ces animaux une réaction locale assez intense qui disparut en huit jours et qui ne montra aucune différence appréciable chez les animaux traités et chez les témoins.

Symptômes anaphylactiques observés. — Afin de diminuer les causes d'erreur dues à une interprétation trop personnelle des phénomènes observés à la suite de l'injection intraveineuse déchainante, nous n'avons cru devoir conclure à la réalité de l'anaphylaxie que lorsque les symptômes se groupaient sous deux formes :

Une forme grave, suraiguë, véritable choc anaphylactique, se caractérisant par des troubles nerveux (prurit, raideur de la nuque, secousses cloniques, attaques convulsives) et cardio-respiratoires (soif d'air, dyspnée intense). Elle aboutit à la mort en quatre à cinq minutes ;

Une forme moyenne, consistant en hérissément du poil, prurit, agitation, puis épuisement, dyspnée, émission des urines. Tous ces troubles apparaissent peu de temps après l'injection et s'atténuent après un temps variable, mais assez court. Il s'accompagnent d'un symptôme important, l'hypothermie. Nous l'avons recherchée méthodiquement et à plusieurs reprises après chaque injection. Elle apparaît en moyenne quinze minutes après l'injection, atteint un maximum après environ une heure et disparaît en une heure et demie à deux heures ; elle varie de 1 à 5 degrés ; son intensité et son évolution nous ont paru le plus souvent parallèles à celles de la réaction anaphylactique.

Nous n'avons donc conclu à l'anaphylaxie positive qu'en présence d'une de ces deux formes du syndrome anaphylactique.

Nous avons de plus multiplié les témoins dans chaque série d'expériences, nous servant soit de cobayes neufs, soit de cobayes préparés par des substances différentes.

Nous avons eu enfin la preuve rigoureuse de la réalité des symptômes observés en parvenant à *anti-anaphylactiser* certains animaux : c'est ainsi que, par la méthode des doses fractionnées et successivement croissantes (Besredka) pratiquées à des intervalles d'une demi-heure, nous avons pu injecter à 3 cobayes préparés par 1 centigramme de cristallin de bœuf des doses de 10 centigrammes de cette substance, sans provoquer aucun trouble, alors que 8 autres cobayes préparés de la même façon mouraient avec choc anaphylactique typique par l'injection de doses cinq et dix fois moindres.

Voici maintenant les résultats de nos expériences.

Première série d'expériences. — Elle eut pour but de répondre à la question suivante : un animal préparé par une injection de substances albuminoïdes cristalliniennes provenant d'une espèce étrangère donne-t-il toujours des phé-

nomènes anaphylactiques lors de l'injection déchainante de *ces mêmes substances*?

Un premier lot de cobayes fut soumis à une injection sous-cutanée ou intrapéritonéale de cristallin de *cheval* frais : la dose employée variait de 0 gr. 25 centigrammes à 3 grammes. D'autres cobayes furent préparés par injection intrapéritonéale ou sous-cutanée d'une quantité de cristallin de cheval desséché variant de 0 gr. 025 à 0 gr. 20 centigrammes.

Après trois à quatre semaines, les survivants furent traités par une injection intraveineuse d'émulsion contenant 0 gr. 02 à 0 gr. 10 centigrammes de cristallin sec de *cheval*.

Sur 17 cobayes observés, 8 présentèrent des accidents d'anaphylaxie grave avec mort en quelques minutes ; 5 réagirent d'une façon moins intense mais montrèrent des troubles nets avec hypothermie constante ; 4, enfin, ne furent aucunement malades. 3 témoins neufs supportèrent l'injection intraveineuse sans trouble apparent.

Il résulte de cette première catégorie d'expériences que, sur 17 cobayes traités par le cristallin de *cheval*, 13 cas d'anaphylaxie positive furent obtenus par l'injection déchainante de la même substance.

Nous reprîmes les mêmes expériences en nous servant du cristallin de *bœuf* desséché (0 gr. 01 à 3 grammes en injection sous-cutanée ou intrapéritonéale préparante ; 0 gr. 005 à 0 gr. 20 centigrammes en injection intraveineuse déchainante). Les accidents anaphylactiques furent ici encore plus nets que précédemment, puisque, sur 9 cobayes soumis à l'injection déchainante, 7 présentèrent le choc avec mort en trois à quatre minutes, 1 fut très malade et montra une chute thermique de 4 degrés, 1 seul enfin ne réagit pas.

8 animaux sur 9 traités par le cristallin de *bœuf* eurent donc une réaction anaphylactique positive. 4 témoins neufs et 3 témoins traités par la méthode antia-naphylactique furent absolument indemnes.

Nous étudîâmes enfin les mêmes phénomènes en utilisant le cristallin de *mouton* desséché (injection préparante de 0 gr. 025 à 1 gramme ; injection déchainante de 0 gr. 025 à 0 gr. 075).

L'expérience a porté sur 12 cobayes : 5 moururent en trois à quatre minutes avec les signes typiques du choc anaphylactique, 4 présentèrent une réaction nette avec hypothermie de 2 à 3 degrés, 3 ne ressentirent aucun trouble apparent. La même injection pratiquée sur 3 cobayes témoins neufs ne fut suivie d'aucun symptôme morbide.

Sur 12 cobayes traités par le cristallin de *mouton*, 9 présentèrent donc une réaction anaphylactique positive,

De l'ensemble des résultats de cette première série d'expériences, on peut conclure, en totalisant les chiffres obtenus que, sur 38 cobayes traités par des injections préparantes de cristallins de cheval, de bœuf ou de mouton, l'injection déchainante intraveineuse de la même substance a provoqué 30 fois une réaction anaphylactique positive, le plus souvent mortelle. L'anaphylaxie par les substances albuminoïdes du cristallin existe donc dans la très grande majorité des cas. Mais est-elle spécifique pour l'organe étudié, pour le cristallin? La deuxième série d'expériences répondra sur ce point.

Deuxième série d'expériences. — Un animal préparé par une injection de substances albuminoïdes cristalliniennes, provenant d'une espèce étrangère donnée, présente-t-il des troubles anaphylactiques à l'injection déchainante du *sérum de cette même espèce*, ou inversement?

Pour étudier cette question nous avons d'abord recherché si les cobayes préparés par l'injection de *cristallin* réagissaient ensuite à l'injection de *sérum* de la même espèce. 2 cobayes furent ainsi soumis à l'injection extrapéritonéale de 2 grammes et de 0 gr. 025 de cristallin de *cheval*. L'injection déchainante, trois semaines après, de 1 cent. cube de *sérum* de cheval ne fut suivie d'aucun trouble.

2 autres cobayes furent de même traités par une injection préparante de cristallin de *bœuf*. L'injection déchainante de *sérum* de bœuf ne détermina aucun symptôme chez l'un; l'autre présenta au contraire du malaise, et un peu d'hypothermie. Notons d'ailleurs ici qu'injectés en quantités égales les extraits bovins semblent être plus toxiques pour le cobaye que ceux du cheval.

3 cobayes, enfin, furent préparés par une injection intrapéritonéale de 0 gr. 025 ou 1 gramme de cristallin de *mouton*, puis soumis trois semaines plus tard à l'injection intraveineuse de 1 cent. cube de *sérum* de mouton. Deux des animaux furent absolument indemnes. L'un présenta un peu de dyspnée et une chute de la température de trois degrés.

Nous avons, d'autre part, soumis 6 cobayes à une injection préparante de 1 cent. cube de *sérum* de cheval, puis ultérieurement à une injection intraveineuse de *cristallin* de cheval (0 gr. 05 à 0 gr. 10). Aucun de ces animaux ne fut malade. Quatre témoins avaient été injectés : deux cobayes neufs injectés au cristallin de cheval et deux cobayes préparés par le *sérum* de cheval et injectés au cristallin de mouton : aucun ne présenta de troubles.

De cette deuxième série d'expériences on peut donc conclure, en résumant, que sur 7 cobayes injectés avec du cristallin d'une espèce étrangère donnée, puis ultérieurement avec le *sérum* de cette même espèce, 2 seulement présentèrent des

symptômes d'anaphylaxie moyenne. Sur 6 cobayes préparés inversement par du sérum, aucun ne réagit à l'injection déchainante de cristallin de même espèce.

L'anaphylaxie sérique semble donc différer absolument de l'anaphylaxie cristallinienne; en d'autres termes, il semble y avoir une véritable spécificité d'organe pour le cristallin. Mais cette spécificité d'organe est-elle limitée à l'espèce d'où provient le cristallin ou au contraire existe-t-elle vis-à-vis de cristallins d'espèces différentes?

Troisième série d'expériences. — Elle eut donc pour but de rechercher si un animal préparé avec le cristallin d'une espèce étrangère donnée peut réagir à l'injection déchainante de cristallin d'une espèce différente.

A un premier lot de 8 cobayes, nous injectâmes dans le péritoine du cristallin de cheval (0 gr. 025 à 2 grammes).

Trois semaines plus tard, 4 furent soumis à une injection intraveineuse de cristallin de bœuf (0 gr. 05) : 2 présentèrent des symptômes d'anaphylaxie, l'une mortelle en trois minutes, l'autre légère; 2 autres furent absolument indemnes.

Les 4 autres cobayes de ce lot furent injectés, d'autre part, avec du cristallin de mouton (0 gr. 05) : l'un ne présenta aucun trouble, les 3 autres eurent des signes nets d'anaphylaxie, dont un cas mortel.

Un deuxième lot de 11 cobayes fut soumis à une injection intrapéritonéale de cristallin de bœuf (0 gr. 05). 7 d'entre eux furent plus tard injectés dans la veine avec du cristallin de cheval (0 gr. 02 à 0 gr. 05) : parmi ceux-ci, 3 furent indemnes, 2 moururent d'anaphylaxie grave en quelques minutes, et 2 présentèrent une réaction anaphylactique très nette.

Les 4 autres cobayes furent soumis à une injection intraveineuse de cristallin de mouton dans la veine : 3 d'entre eux moururent en trois à quatre minutes avec les symptômes de l'anaphylaxie suraiguë; le quatrième ne réagit pas, mais l'injection avait été défectueuse chez lui.

Un troisième lot de 12 cobayes fut enfin traité par une injection préparante intrapéritonéale de cristallin de mouton (0 gr. 025 et 0 gr. 05 centigrammes). L'un fut trois semaines plus tard soumis à une injection intraveineuse de 0 gr. 05 de cristallin de bœuf : il mourut en trois minutes d'anaphylaxie grave. Les 11 autres furent, à des époques différemment éloignées de la première injection, traités par une seconde injection de cristallin de cheval : 4 d'entre eux ne montrèrent aucune réaction; 5 présentèrent des symptômes moyens d'anaphylaxie avec hypothermie atteignant 5 degrés chez l'un et 3 degrés en moyenne chez les autres; 2 enfin moururent en quelques minutes.

En examinant l'ensemble des résultats de cette troisième série d'expériences, on voit donc que : sur 8 cobayes préparés

par du cristallin de cheval et injectés secondairement avec du cristallin d'espèces différentes, 5 ont montré une anaphylaxie positive; sur 11 cobayes préparés au cristallin de bœuf, puis soumis à l'injection de cristallins d'autres espèces, 7 ont réagi d'une façon positive; sur 12 cobayes préparés au cristallin de mouton, 8 montrèrent une réaction anaphylactique positive à l'injection déchainante de cristallins d'espèces différentes. Dans l'ensemble, sur 31 cobayes soumis à des injections préparantes et déchainantes de cristallins d'espèces différentes, 20 ont eu une réaction anaphylactique positive. On en peut donc conclure que l'injection du cristallin d'une espèce donnée anaphylactise, en général, le cobaye pour le cristallin d'autres espèces. Ce fait est important, car il montre que la réaction anaphylactique cristallinienne n'est pas limitée à l'espèce. Ceci est absolument contraire à ce qui se passe pour le sérum et les autres organes, ainsi que l'admettent Rosenau et Anderson.

De l'ensemble des résultats de la deuxième série d'expériences, nous pouvions donc conclure d'une part à la spécificité d'organe; d'autre part, des résultats de cette troisième série d'expériences semble résulter, au contraire, la non-spécificité d'espèce des réactions anaphylactiques cristalliniennes.

On pouvait donc arriver à considérer l'albumine cristallinienne comme se comportant vis-à-vis de l'organisme dont elle provient comme une substance étrangère; il n'était même pas irrationnel de penser qu'on pourrait parvenir à anaphylactiser le cobaye, par exemple, pour son propre cristallin. C'est ce point que nous avons cherché à élucider dans la série d'expériences suivantes.

Quatrième série d'expériences. — Un animal préparé par une injection de substances albuminoïdes cristalliniennes provenant de *sa propre espèce* peut-il réagir à l'injection déchainante de ces mêmes substances?

Douze cobayes furent, pour répondre à cette question, soumis à une injection sous-cutanée ou intrapéritonéale de 0 gr. 025 ou 0 gr. 05 de cristallin de cobaye en émulsion.

Seize jours plus tard, nous leur injectâmes à chacun 0 gr. 05 de cette même émulsion dans la veine. Aucun ne présenta le moindre trouble, ni de variation thermique. Deux témoins ne montrèrent à plus forte raison aucune réaction.

Nous soumîmes, quinze jours plus tard, six de ces mêmes cobayes à une seconde injection déchainante de 0 gr. 03, qui ne fut non plus suivie d'aucun trouble.

Cette expérience très nette montre donc qu'il est impossible chez un animal d'obtenir des phénomènes anaphylactiques par l'injection préparante et par l'injection déchainante de cristallin de sa propre espèce. Il semble donc bien difficile de souscrire à l'opinion de certains auteurs (Krusius) qui, non seulement admettent ces phénomènes d'auto-anaphylaxie, mais encore affirment qu'on peut les obtenir chez un cobaye préparé par une simple discision de la capsule de son cristallin. Mais peut-être est-il possible de provoquer dans certaines conditions chez le cobaye le choc anaphylactique par l'injection de cristallin de cobaye. La cinquième série de nos expériences a été faite pour répondre à cette question.

Cinquième série d'expériences. — Un animal préparé par une injection de substances albuminoïdes cristalliniennes provenant d'une *espèce étrangère* peut-il ensuite réagir à l'injection déchainante de substances cristalliniennes de sa *propre espèce*?

Nous préparâmes dans ce but un lot de 10 cobayes par une injection intrapéritonéale d'extraits de cristallin : 4 furent traités par le cristallin de cheval (0 gr. 025), 3 par le cristallin de bœuf (0 gr. 025), 3 par le cristallin de mouton (0 gr. 025). Puis, après un temps moyen de quatre semaines, tous furent soumis à l'injection intraveineuse de cristallin de cobaye (0 gr. 025). Des 4 cobayes traités par le cristallin de cheval, 2 ne présentèrent aucun trouble, et 2 eurent des signes d'anaphylaxie moyenne avec hypothermie. Sur les 3 cobayes traités par le cristallin de bœuf, 1 ne réagit pas, 1 présenta des symptômes anaphylactiques assez graves et le dernier mourut de choc typique en quelques minutes. Quant aux 3 cobayes traités par le cristallin de mouton, ils présentèrent tous des signes d'anaphylaxie très nets, deux avec mort en quatre à cinq minutes et le troisième avec une hypothermie de 4 degrés.

Dans l'ensemble, sur 10 animaux, 7 ont donc présenté une réaction anaphylactique positive à l'injection de cristallin de leur propre espèce.

Il est donc possible par l'injection préparante de cristallin d'une espèce étrangère de sensibiliser le cobaye pour son propre cristallin.

CONCLUSIONS.

De l'ensemble de ces diverses expériences, résumées dans le tableau ci-joint, il semble qu'on puisse tirer les conclusions suivantes :

NATURE de l'injection préparante.	NATURE de l'injection déchainante.	CAS D'ANAPHYLAXIE POSITIVE			CAS d'anaphylaxie négative.	EXPÉRIENCES
		forte.	moyenne.	Total.		
Cristallin de cheval.	Cristallin de cheval.	8	5	13	4	Série 1
Cr. de bœuf.	Cr. de bœuf.	7	1	8	1	
Cr. de mouton.	Cr. de mouton.	5	4	9	3	
	Total...	30	8	
Cr. de cheval.	Sér. de cheval.	0	0	0	2	Série 2
Sér. de cheval.	Cr. de cheval.	0	0	0	6	
Cr. de bœuf.	Sér. de bœuf.	0	1	1	1	
Cr. de mouton.	Sér. de mouton.	0	1	1	2	
	Total...	2	11	
Cr. de cheval.	Cr. de bœuf.	1	1	2	2	Série 3
Cr. de cheval.	Cr. de mouton.	1	2	3	1	
Cr. de bœuf.	Cr. de cheval.	2	2	4	3	
Cr. de bœuf.	Cr. de mouton.	3	0	3	1	
Cr. de mouton.	Cr. de cheval.	2	5	7	4	
Cr. de mouton.	Cr. de bœuf.	0	1	1	0	
	Total...	20	11	
Cr. de cobaye.	Cr. de cobaye.	0	0	0	12	Série 4
	Total...	0	12	
Cr. de cheval.	Cr. de cobaye.	0	2	2	2	Série 5
Cr. de bœuf.	Cr. de cobaye.	1	1	2	1	
Cr. de mouton.	Cr. de cobaye.	2	1	3	0	
	Total...	7	3	

1° Un animal préparé par une injection de substances albuminoïdes cristalliniennes provenant d'une espèce étrangère donnée réagit presque toujours à l'injection déchainante de cristallin de cette même espèce, le plus souvent à l'injection

déchaînant de cristallin d'espèces différentes, et presque jamais à l'injection déchaînant de sérum de la même espèce ;

2° Un animal ne peut réagir à l'injection déchaînant de cristallin de sa propre espèce que s'il a été préparé par une injection de cristallin d'espèce différente.

Le cristallin semble donc au point de vue des réactions anaphylactiques jouir de propriétés spéciales, paraissant différentes de celles de tous les autres organes et du sérum. Il est doué d'une véritable spécificité d'organe, puisque les animaux préparés par le cristallin d'une espèce quelconque ne réagissent pas au sérum de même espèce, et est au contraire dénué de toute spécificité d'espèce puisque ces animaux réagissent au cristallin, de quelque espèce qu'il provienne.

Ces faits semblent absolument contraires à ce qu'on observe dans l'anaphylaxie au sérum et aux extraits des autres organes. La spécificité des sérums est en effet presque absolue pour l'espèce. Ranzi a, d'autre part, montré que les animaux préparés par un extrait d'organe d'une espèce donnée réagissaient indistinctement aux extraits des différents organes et au sérum de la même espèce, mais jamais aux mêmes substances d'une espèce différente.

Il est possible d'admettre que ces propriétés des extraits d'organes sont dues au sérum qui y est toujours contenu. Des expériences de Minet et Bruyant semblent le prouver : en sensibilisant des cobayes par des extraits d'organes et en les anti-anaphylactisant ensuite par le sérum, ces auteurs ont obtenu des réactions anaphylactiques par injection d'extraits d'organes correspondants, qui semblent jouir d'une spécificité pour chaque organe ; Pfeiffer va plus loin et nie presque la spécificité d'espèce.

Ces derniers faits nous rapprochent de ce que l'on observe pour le cristallin. Cet organe avasculaire, placé dans des conditions de nutrition très spéciales et uniques dans l'économie, jouirait de propriétés biologiques différentes de celles du sérum et par conséquent des autres organes qui en contiennent tous. Ce qui semble justifier cette hypothèse, c'est que le cristallin de l'embryon, organe encore vasculaire, possède une action

analogue à celle du sérum d'animaux de même espèce et que cette spécificité pour l'espèce, très nette au début, disparaît progressivement au cours du développement (von Szily).

La spécificité d'organe du cristallin n'est donc qu'un état secondaire, et semble liée aux conditions biologiques spéciales de cet organe chez l'adulte.

On peut, d'autre part, supposer que, si l'on parvenait à dissocier pour les autres extraits d'organes les propriétés anaphylactiques de ceux-ci et celles du sérum qu'ils contiennent, on obtiendrait dans leurs réactions anaphylactiques des résultats absolument comparables à ceux que l'on constate pour le cristallin; la spécificité de l'espèce serait alors uniquement une propriété du sérum.

Nous espérons, par des expériences ultérieures, arriver à vérifier cette hypothèse.

BIBLIOGRAPHIE DES TRAVAUX CITÉS

- ANDREJEW. — Anaphylaxie mit Eiweiss tierischer Linsen. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. Bd XXX, Heft 2, S. 450, 1909.
- BESREDKA. — De la vaccination anti-anaphylactique. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie de Paris*, 1908, p. 478-480.
- KAPSENBERG. — Die Anaphylaxie mit Linsensubstanz. *Zeitschr. für Immunit. und exp. Therapie, Orig.*, 1912, Bd. XV, p. 518.
- KRUSIUS. — Ueberempfindlichkeitsversuche vom Auge aus. *Arch. f. Augenheilk.*, 1910, S. 6.
- Bemerkungen zu der Arbeit von Roemer und Gebb : « Beiträge zur Frage der Anaphylaxie, etc. ». *V. Graefe's, Arch. f. Opht.*, 1912, Bd. LXXXII, H. 1, p. 180.
- PFEIFFER. — Zur Organspezifität der Ueberempfindlichkeit. *Zeitschr. f. Immunit., Orig.*, Bd VIII, H. 3, 1910.
- RANZI. — Ueber Anaphylaxie durch Organ- und Tumorextrakte. *Zeitschr. f. Immunit., Orig.*, Bd II, H. 1, S. 12-20, 1909.
- RICHTER. — *L'anaphylaxie*. Alcan, Paris, 1912, 2^e édition.
- ROEMER (P.). — Die Pathogenese der Cataracta senilis vom Standpunkt der Serumsforschung. *Arch. f. Opht.* Bd IX, S. 175, 1905; *Ergänzungsheft*, S. 150, 1907.
- ROEMER und GEFF. — Beiträge zur Frage der Anaphylaxie durch Linseneiweiss und Eiweiss aus andern Geweben des Auges. *V. Graefe's, Arch. f. Opht.*, Bd LXXXI, H. 2, S. 367, 1912.
- Weiterer Beitrag zur Anaphylaxie mittels Linseneiweiss. *V. Graefe's, Arch. f. Opht.*, Bd LXXXIII, H. 3, S. 504, 1912.
- Weiterer Beitrag zur Frage der Anaphylaxie durch Linseneiweiss. *V. Graefe's, Arch. f. Opht.*, Bd LXXXIV, H. 1, S. 183, 1913.

- ROSENAU and ANDERSON. — Studies upon Hypersensibility and Immunity. *Public Health and marine Hosp. Bullet.*, Nr. 36, p. 1, 1907.
- Further Studies upon Anaphylaxis. *Hyg. Labor. Public Health and Med. Hosp. Serv. Bull.* Nr 45, 1908.
- A review of Anaphylaxis with special reference to Immunity. *Journ. of Inf. Diseases*, vol. V, p. 85.
- SZILY (Von). — Ueber die Organspezifität der ausgebildeten Linse und über ihre Artspezifität in embryonaler Zeit. *Klin. Monatsh. f. Augenh.*, Neue Folge, Bd XII, S. 450, 1911.
- UHLENHUTH. — Zur Kenntniss der giftigen Eigenschaften des Blutserums. *Zeitschr. f. Hygiene*, Bd XXVI, S. 384, 1897.
- Komplementablenkung und Blut-Eiveissdifferenzierung. *Deutsche Med. Wochenschr.*, 1906.
- UHLENHUTH und HENDEL. — Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Anaphylaxie zur, etc. *Zeitschr. f. Immunit., Orig.*, Bd IV, H. 6, S. 761, 1910.

**LA FLORE INTESTINALE DES LAPINS
NOURRIS DE CAROTTES
ET DES LAPINS SOUMIS A L'INANITION**

par D. ROUGENTZOFF

(Travail du laboratoire de M. le professeur Metchnikoff.)

INTRODUCTION

L'étude actuelle apparaît comme un chaînon de toute une série de travaux sur la flore intestinale, qui ont été faits dans le laboratoire de M. le professeur Metchnikoff.

Dans ce travail, nous nous sommes efforcé d'étudier surtout la composition qualitative de la flore microbienne de l'intestin des lapins soumis aux deux régimes cités plus haut, et nous avons recherché quelle était la modification de cette flore, tant au point de vue qualitatif que quantitatif, modification à laquelle on doit s'attendre, vu les deux modes d'alimentation différents.

Cette comparaison présente d'autant plus d'intérêt qu'elle contribuera peut-être à l'étude de la question : pourquoi l'urine des lapins nourris avec des carottes ne contient jamais d'indoxyl, tandis que celle des lapins dans l'état d' inanition en contient toujours en assez grande quantité.

D'après l'opinion généralement admise, l'indican urinaire, dans la plupart des cas, tire son origine de l'indol, qui lui-même se forme dans l'intestin, grâce à la destruction des substances albuminoïdes. La marche habituelle de la destruction de ces substances est la suivante : sous l'action des ferments protéolytiques, pepsine, trypsine et érepsine, sécrétés par les organes de la digestion, les albuminoïdes se décomposent en acides monoaminés et diamminés. La désintégration se poursuit et les produits ultimes de la digestion, la tyrosine

et le triptophane, se décomposent sous l'influence des microbes et il se forme de l'indol, du scatol et des phénols. Ces substances, facilement résorbées par la muqueuse de l'intestin, pénètrent dans le sang; plus tard, elles sont amenées au foie, où elles se transforment en se combinant avec l'acide sulfurique, et enfin sont sécrétées avec l'urine sous forme de sulfoconjugués.

En partant de l'indol qui se forme dans l'intestin, on obtient dans l'urine l'indican. Cet indican doit avoir encore d'autres sources, car on avait remarqué qu'il augmentait dans les cas de foyers de suppuration: cancer ou empyème (Brieger, Ortweiler). Leyden, Blumenthal, Rosenfeld et Léwi ont trouvé l'augmentation de l'indican dans le diabète expérimental et dans l'intoxication par la phloridzine et l'acide oxalique.

Enfin Senator, Brieger et Rosenbach ont attiré l'attention sur l'augmentation de l'indican dans des cas d'anémie grave dans la chlorose en expliquant ce fait par la destruction des albumines des tissus par l'autolyse cellulaire exagérée.

L'origine de l'indican urinaire chez des animaux en état d inanition fut l'objet de grandes discussions et de beaucoup de recherches.

Salkowsky, Jaffe, Senator, Blumenthal et beaucoup d'autres s'appuyaient sur la présence de l'indican dans l'urine des animaux en état d'inanition, pour s'élever contre la théorie de l'origine intestinale de l'indican urinaire. Les partisans de cette dernière théorie essayaient, au contraire, de la prouver en supposant, les uns qu'une hémorragie se produisait, pendant le jeûne, dans l'intestin et que la décomposition de ce sang devenait une source d'indican. Les autres croyaient que l'indicanurie chez des animaux à jeun dépendait de la putréfaction des sucs digestifs, très riches en albumine, et pour démontrer que l'intestin était le lieu de formation de l'indican, on a fait toutes sortes de recherches pour tracer un parallèle entre l'indican dans l'urine et l'indol dans l'intestin des animaux en état d'inanition.

Rosenfeld (1) a cherché l'indol dans les matières fécales des lapins à jeun, mais n'a pu le trouver que dans 5 cas seulement sur 34 qu'il avait étudiés.

Gauthier et Hervieu (2) ont cherché l'indican dans l'urine de quatre lapins et ont pu le constater déjà après le premier jour de jeûne. Le deuxième jour, sa quantité a beaucoup augmenté, pour diminuer le jour de la mort. L'urine prise dans la vessie au moment de la mort ne contenait pas trace d'indoxyl. Les mêmes auteurs ont analysé le contenu intestinal de ces lapins; ils ont extrait l'indol par la benzine et, dans tous les cas, la réaction

(1) *Beiträge für chem. Physiol. und Pathol.*, 589.

(2) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXIII, p. 223 et 610.

fut positive. Parallèlement, ils ont étudié le contenu du gros intestin d'un lapin, très bien nourri pendant trois jours de suite, et pas une trace d'indol n'a pu être constatée.

Ellinger (1) a trouvé trois fois sur quatre de l'indol dans les matières fécales des lapins à jeun.

Fr. Blumenthal a cherché l'indol dans le contenu intestinal des lapins à l'état d'inanition. Il distillait ce contenu avec un acide dilué, mais il n'a pas trouvé d'indol dans les quatre cas étudiés par lui.

Ury (2) avait montré que les selles contenant de l'indol et distillées avec un acide fort donnaient souvent un résultat négatif, pendant que les mêmes produits à distillation alcaline donnaient une assez grosse quantité d'indol.

Ury avait montré de plus que, pendant la distillation des fèces les premiers 20 ou 30 cent. cubes contenaient peu d'indol ou n'en contenaient pas du tout, tandis que les portions suivantes en donnaient beaucoup plus.

La technique de la recherche de l'indol dans le contenu intestinal fut ainsi perfectionnée et Fr. Blumenthal et Jacoby (3) se sont mis de nouveau à étudier la question de l'origine de l'indican chez des animaux à l'état d'inanition. Pour voir s'il y avait un parallélisme entre l'indoxyl dans l'urine et l'indol dans les matières fécales, ces auteurs ont fait leurs expériences sur deux groupes d'animaux : d'un côté, ils avaient des lapins qu'ils soumettaient à l'inanition, dont l'urine contenait une grosse quantité d'indican; de l'autre, des lapins nourris de choux-fleurs et de carottes, et dans l'urine desquels on ne trouvait pas d'indican.

Les conclusions de leurs recherches furent les suivantes :

1° L'intestin des lapins soumis à l'inanition contient encore beaucoup d'aliments au moment où leur urine contient beaucoup d'indican.

2° On ne remarque pas d'hyperémie ni d'hémorragie sur la muqueuse intestinale.

3° L'intestin grêle ne contient pas d'indol.

4° Le gros intestin en contient toujours.

Chez des lapins nourris de carottes et de choux-fleurs, on a vu que :

1° Leur urine ne contient pas d'indican;

2° Le produit de distillation du contenu de l'intestin grêle ne contient pas d'indol;

3° Le contenu du gros intestin en contient, mais pas toujours.

En se basant sur ces expériences, qui avaient pour but de constater le parallélisme entre l'augmentation de l'indol dans le contenu intestinal et de l'indican dans l'urine des lapins à l'état d'inanition, on aurait pu conclure que l'indican urinaire tirait, en effet, son origine de l'indol de l'intestin. Mais les deux auteurs précédents ne croient pas que la quantité d'indol trouvé puisse expliquer, d'une façon suffisante, l'indicanurie de ces animaux. Ils ont fait alors des injections sous-cutanées d'indol et, ayant constaté, aussitôt après, de l'indol dans le contenu intestinal, ils sont arrivés à cette conclusion qu'on ne pouvait savoir au juste si l'indol qu'on trouve dans les fèces des lapins en état d'inanition provenait de la putréfaction du contenu intestinal ou s'il y était déversé par le sang. Ils se sont mis alors à chercher de l'indol dans le sang circulant et dans les tissus des

(1) *Zeitschr. für physiol. Chem.*, 38.

(2) *Deutsche med. Wochenschr.*, 1904, n° 19.

(3) *Biochemische Zeitschrift*, Bd XXIX, p. 472.

animaux en état d'inanition. Les résultats furent négatifs tandis qu'ils pouvaient toujours en constater dans le sang et les tissus des animaux auxquels l'indol fut injecté.

L'étude parallèle de la flore microbienne des lapins nourris de carottes et de ceux qu'on soumet à l'inanition pourrait, il nous semble, éclaircir ce problème très difficile.

Si nous savons que l'indican urinaire provient principalement de la putréfaction intestinale et si l'indican dans l'urine des animaux soumis à l'inanition a réellement cette origine, nous devrions constater également une modification correspondante dans la putréfaction intestinale des animaux à jeun et des animaux nourris de carottes et chez lesquels l'indican est absent.

Nous savons que l'indol, dans l'intestin, peut se former aux dépens de la destruction, par des microbes, des substances albuminoïdes qui traversent le tube intestinal. Si on pouvait, en étudiant la composition qualitative de la flore intestinale des lapins soumis à nos deux régimes, établir la modification de cette flore, en constatant soit l'apparition de nouveaux microbes protéolytiques, absents dans les conditions habituelles, et qui contribueraient à la formation de l'indol dans l'intestin, soit en constatant encore la diminution ou la disparition des microbes antagonistes de la putréfaction, et plus encore si on pouvait démontrer qu'en état d'inanition la proportion réciproque des microbes changeait dans le sens d'augmentation nette de ceux parmi eux qui produisent surtout de l'indol, et enfin si on pouvait remarquer dans le contenu intestinal la modification du milieu lui-même qui favoriserait les microbes donnant de l'indol, nous aurions, par là même, démontré que dans l'intestin des animaux en état d'inanition se trouvent réunies toutes les conditions favorables à la production d'indol et nous aurions pu supposer qu'en état d'inanition, l'indican est bien d'origine intestinale.

Voilà les problèmes que nous nous sommes posés en acceptant la thèse de M. Metchnikoff, thèse ayant pour but l'étude de la flore intestinale des lapins à l'état d'inanition.

Le travail actuel sera la description de toutes les données de nos recherches.

Nous avons divisé notre étude en deux chapitres : dans le premier nous décrirons l'étude qualitative de la flore intestinale des lapins nourris de carottes, et de ceux qui sont soumis à l'inanition dans le deuxième. Nous donnerons les résultats de nos recherches sur la modification quantitative du *B. coli* chez des lapins soumis à l'inanition et sur les variations de sa fonction, qui paraît être celle de former l'indol dans l'intestin des lapins nourris de carottes.

I

ÉTUDE QUALITATIVE DE LA FLORE INTESTINALE DES LAPINS NOURRIS DE CAROTTES ET DES LAPINS SOUMIS A L'INANITION.

Pour nos recherches, nous avons adopté le plan suivant : onze lapins furent partagés en deux lots : un d'eux contenait cinq lapins (n^{os} 1, 2, 6, 7 et 11), le deuxième était composé de six (n^{os} 3, 4, 5, 8, 9 et 10). Les premiers ont été nourris exclusivement avec de la carotte ; les animaux du deuxième groupe, après avoir été longtemps nourris avec de la carotte, furent soumis au fur et à mesure à l'inanition. Chaque lapin avait sa cage spéciale, dans laquelle il y avait une sorte d'entonnoir pour l'urine et deux filets pour retenir les excréments. Le fond de la cage formait un filet à mailles très larges, ce qui faisait tomber les matières fécales aussitôt émises et ce qui empêchait en même temps les animaux à jeun de se nourrir de leurs propres excréments.

Pendant toute la durée de nos expériences, l'urine fut analysée tous les jours. Nous nous servions, pour chercher l'indoxyl, des réactions d'Obermayer, de Gracioni et Jaffé. Mais, plus tard, nous nous sommes arrêté à celle d'Obermayer en y apportant toutefois une petite modification. Nous nous servions du perchlorure de fer pur au lieu de le diluer dans de l'acide chlorhydrique. La marche de la réaction est la suivante : si l'urine contient du mucus (ce qui arrive à l'état d'inanition), on s'en débarrasse en ajoutant à l'urine 1/10 de son volume d'une solution à 20 p. 100 de sous-acétate de plomb et en faisant ensuite des filtrations successives. On prend ensuite

10 cent. cubes de cette urine, on y ajoute le même volume d'acide chlorhydrique, une goutte de perchlorure de fer et enfin une petite quantité de chloroforme. Après avoir bien agité, on laisse reposer les tubes à essai, les gouttes de chloroforme se déposant au fond et formant la couche inférieure.

Si l'urine contient de l'indican, la couche transparente de chloroforme prend une coloration bleue.

Pour la recherche de la flore du contenu intestinal, nous divisions, après avoir tué l'animal en expérience, son tube digestif en six parties : *a*) estomac ; *b*) duodénum ; *c*) partie inférieure de l'intestin grêle ; *d*) appendice ; *e*) côlon et *f*) rectum. Nous les transportions, avec toutes les précautions nécessaires, dans les boîtes de Petri et là nous débarrassions les parties du tube digestif de leur contenu. A l'aide de sérum physiologique, on fait de ce contenu une émulsion qu'on verse ensuite dans quatre tubes à essai. Deux de ces tubes furent chauffés à la température de $+ 80$ degrés pendant 15 minutes.

Pour les recherches ultérieures, tous les quatre tubes (et ainsi pour toutes les parties du tube digestif) ont été portés à l'étuve ; pour faire pousser les microbes qui se trouvaient dans le mélange et pour créer des conditions favorables aux anaérobies, on a fait le vide dans deux des tubes. L'émulsion dans l'un de ces deux tubes fut chauffée et dans l'autre elle fut laissée à la température ordinaire.

Pour isoler les microbes de telle ou telle autre espèce, nous avons eu recours, suivant les propriétés biologiques de ces microbes, à des milieux de culture spéciaux.

En résumé, tout contenu de chaque partie du tube digestif avait subi les manipulations suivantes :

1° Isolement des microbes dans l'émulsion fraîche à l'aide des cultures en plaques (on faisait couler dans les boîtes de Petri de l'agar simple avec desensemencements en stries, qu'on répétait aussi sur l'agar Drigalsky-Conradi) ;

2° Isolement des microbes dans l'émulsion fraîche à l'aide des cultures en plaques sur gélatine ;

3° Isolement des microbes sporulés dans l'émulsion fraîche, chauffée pendant quinze minutes à la température de 80 degrés à l'aide des cultures en plaques sur agar ;

4° Isolement des microbes anaérobies à l'aide de l'ensemencement

cement profond dans l'agar de Veillon, d'une émulsion fraîche chauffée et non chauffée ;

5° Isolement du *B. perfringens* : on ensemence l'émulsion fraîche dans du lait qu'on porte ensuite à l'ébullition pendant une minute ; après en avoir chassé l'air, on met les tubes pour vingt-quatre heures à l'étuve. Avec la culture obtenue, on fait des ensemencements profonds dans de l'agar sucré de Veillon, agar fondu et refroidi à 45 degrés pour avoir des colonies isolées ;

6° Isolement des anaérobies protéolytiques. L'émulsion, chauffée à 85 degrés pendant 15 minutes, est ensemencée dans le bouillon de Martin, additionné de l'albumine d'œuf coagulé. Les tubes, après que l'air en fut chassé, sont placés pour quelques jours à l'étuve et ensuite on en a fait des ensemencements dans l'agar glucosé de Veillon pour obtenir des colonies isolées ;

7° Isolement des microbes acidophiles : le contenu frais de l'intestin est ensemencé dans du bouillon glucosé auquel on ajoute 1/2 à 1 p. 100 d'acide acétique ou lactique. Deux ou cinq jours après, on procède à l'isolement des microbes en ensemencant la culture de ces tubes dans l'agar glucosé de Veillon fondu et refroidi à 43 degrés ;

8° Pour différencier les microbes de l'hémicellulose, on prenait le contenu frais chauffé et on l'ensemencait dans le milieu d'Omeliansky. On mettait les tubes pour quelques jours à l'étuve et on réensemencait ensuite dans de l'agar fondu et refroidi ;

9° Pour isoler les mêmes microbes de l'hémicellulose, on remplaçait le milieu d'Omeliansky par un autre, composé d'une solution de sérum physiologique dans lequel fut placé un morceau de pomme de terre ;

10° Pour séparer les microbes amylolytiques, on procédait de la même façon que dans les cas précédents, mais, comme milieu préalable de la pullulation des microbes, on prenait une solution d'amidon ;

11° Pour isoler les microbes protéolytiques aérobies, on ensemencait le contenu chauffé dans le milieu de culture d'Achalme-Passini. Après quelques jours à l'étuve, on faisait la séparation des microbes à l'aide des cultures en plaques sur agar.

Pour isoler le *B. Proteus*, on se servait de la méthode de Schoukewitch (1), qui consiste à ensementer le contenu de l'intestin dans l'eau de condensation de l'agar incliné. Le *B. Proteus*, comme microbe mobile, forme à la surface de l'agar un voile allant de bas en haut.

Toutes les manipulations ont été refaites ultérieurement avec le contenu intestinal, auquel on a fait subir la putréfaction en respectant les conditions nécessaires à la vie aérobie et anaérobie. Ainsi des tubes qui ont subi la putréfaction dans des conditions aérobies furent réensemencés pour isoler le *B. Proteus*; les mêmes tubes, mais chauffés pendant quinze minutes à 80 degrés, servaient pour isoler les aérobies sporulés; le contenu des tubes qui ont subi, après chauffage préalable, la putréfaction dans les conditions anaérobies, servait pour séparer les anaérobies; on faisait, avec les mêmes, des ensemencements en vue des anaérobies protéolytiques (§§ 6 et 7). Les tubes dans lesquels le contenu intestinal subissait la putréfaction sans chauffage préalable servaient pour faire les manipulations (§§ 8, 9, 10).

Les colonies isolées de microbes que nous avons obtenues ont été étudiées dans tous les milieux nutritifs à tous les stades de leur développement et nous avons recherché également leur pouvoir pathogène.

Nous donnerons plus loin l'énumération simple de tous les microbes que nous avons trouvés dans le contenu de l'intestin de nos deux groupes de lapins.

A. — Flore intestinale des lapins nourris exclusivement de carottes.

Avant de commencer à décrire et à énumérer les microbes que nous avons trouvés chez des lapins soumis au régime de carottes, nous donnerons un tableau général de cette flore telle qu'elle se présente sur des préparations faites avec de l'émulsion du contenu de telle ou telle partie du tube digestif et colorées d'après la méthode de Gram.

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1911, p. 253.

Un frottis, fait avec le contenu de l'estomac, nous montre beaucoup de microbes; mais, vu que la plupart d'eux se colorent partiellement (granulation) ou se colorent faiblement, vu qu'ils présentent presque tous une granulation, nous pensons que les microbes périssent dans l'estomac. A côté des bâtonnets ne prenant pas le Gram, nous en trouvons une grande quantité qui se colorent très fortement par le Gram. On y trouve également des cocci et des diplocoques prenant le Gram.

Les frottis faits avec le contenu du duodénum nous frappent par le peu de microbes qu'on y rencontre. D'après leur forme et leur manière de se colorer, on peut conclure qu'il s'agit surtout de formes dégénérées.

Sur les frottis, faits avec le contenu de la partie inférieure de l'intestin grêle, nous trouvons un peu plus de microbes, parmi lesquels beaucoup en voie de dégénérescence. Il y a des cocci et diplocoques tantôt prenant, tantôt ne prenant pas le Gram. On y voit aussi des bâtonnets prenant le Gram, et dans quelques-uns on remarque des spores qui sont restées incolores.

Le tableau change brusquement quand on met sous le microscope un frottis fait avec le contenu de l'appendice. Une quantité énorme de microbes apparaît dans le champ du microscope. Ce sont, pour la plupart, de petits bâtonnets ne prenant pas le Gram et rappelant par leur forme le *B. coli*. Au milieu d'eux, on trouve, mais en quantité beaucoup moindre, des bâtonnets plus grands, munis souvent de spores, se colorant par le Gram et nous rappelant, par leur forme, les bactéries du groupe *Subtilis-Megatherium*. Par-ci, par-là, quelques cocci et diplocoques.

Le frottis, fait avec le contenu du côlon, nous fait voir dans le microscope le même tableau que le précédent.

Dans le rectum, on trouve peut-être plus de formes dégénérées et encore plus de formes bacillaires prenant le Gram.

Les préparations que nous venons de décrire ont été faites avec le contenu du tube digestif d'un seul lapin (n° 2). Le tableau microscopique varie d'un lapin à l'autre. Chez les uns, ce sont des bactéries du type *B. coli* qui sont en plus grand nombre. Chez d'autres, ce sont les formes bacillaires prenant le Gram qui prédominent.

En nous servant des méthodes d'isolement que nous avons décrites plus haut, nous avons pu mettre en évidence les microbes suivants :

a) Parmi les microbes protéolytiques, aérobies et anaérobies facultatifs, nous avons eu très souvent : *B. megatherium*, quelques variétés de *B. mesentericus*, *fuscus*, *ruber*, *multipediculus* et d'autres. Beaucoup plus rarement nous avons rencontré *B. subtilis*, *Staphylococcus albus* et *aureus*, *Sarcina flava* et dans un cas : *B. proteus vulgaris*. En outre, nous avons isolé douze espèces de microbes protéolytiques que nous

n'avons pas pu identifier et qui doivent être rapportés à des hôtes accidentels de l'intestin.

b) Parmi les aérobies non protéolytiques et les anaérobies facultatifs, nous avons toujours pu isoler le *B. coli* et une espèce en forme de bacille, que nous n'avons pas pu identifier. Nous avons rencontré également l'*Enterococcus saccharomyces* et enfin sept espèces de microbes observés à chaque étude une seule fois et que nous n'avons pas identifiés.

c) Parmi les microbes acidophiles, nous avons isolé deux fois *B. acidophilis* Moro, et une fois dans chaque cas *B. acidophilis* Merechkowsky n° 1, *B. bifidus* et deux fois un *coccobacille*.

d) Parmi les anaérobies, nous avons rencontré chez les lapins *B. perfringens* et ensuite nous avons vu très souvent *B. putrificus*, *B. sporogenes* A et B et enfin *B. paraputrificus*.

B. — Flore intestinale des lapins en état d'inanition.

Avant d'entrer dans la description des microbes isolés, nous allons faire comme précédemment et donner un tableau général de la flore microbienne telle qu'elle se présente à nos yeux sous le microscope, et nous noterons, chemin faisant, la différence de nos préparations avec celles que nous avons faites avec le tube digestif des lapins nourris de carottes.

Dans l'estomac, nous trouvons, au milieu d'un petit nombre de cocci, des microbes ayant la forme de bacilles. La plupart de ces microbes sont en voie de dégénérescence, ce qui nous explique peut-être pourquoi nous y trouvons si peu de microbes prenant le Gram, malgré que le nombre total de microbes soit plus grand que dans le contenu de l'estomac du lapin nourri de carottes.

Dans le duodénum, on voit dans le champ du microscope beaucoup plus de microbes que dans la même partie de l'intestin d'un lapin normal. La plupart des bactéries présentent une forme d'involution et ceux qui se colorent par le Gram le prennent partiellement. On ne remarque pas de formes en coccus. La partie inférieure de l'intestin grêle contient un grand nombre de bactéries ayant la forme des bacilles. De temps en temps, on y aperçoit des microbes prenant le Gram. Très peu de formes en coccus. Le tableau de ces frottis est différent de ceux que nous avons vus chez le lapin normal.

Sur les frottis du contenu de l'appendice, un nombre colossal de microbes ayant exclusivement la forme de bacilles. De place en place, des bacilles se colorant par le Gram. Beaucoup de formes d'involution. On trouve parmi les bacilles qui ont perdu la propriété de prendre le Gram quelques-uns munis de spores.

Le peu de bactéries qui prennent le Gram différencient ces frottis de ceux pris chez des lapins normaux. Le contenu du côlon et du rectum ne diffère presque en rien de celui de l'appendice du même lapin.

Le nombre beaucoup plus grand de bactéries sur les frottis faits avec le contenu de l'estomac, du duodénum et de la partie inférieure de l'intestin grêle des lapins en état d'inanition paraît être un fait généralement observé.

Passons maintenant à l'énumération des microbes isolés par les mêmes procédés dont nous nous sommes servis pour le premier lot de lapins :

a) Parmi les microbes aérobies et anaérobies facultatifs, nous avons eu très souvent *B. megatherium*, quelques espèces des *B. mesentericus*, *fuscus*, *vulgatus*, *multipediculus* et d'autres; *B. subtilis*, *mycoides*; assez souvent nous rencontrons *Staphylococcus albus* et *Sarcina flava*, et une fois dans chaque cas : *Coccus flavus* et *aurantiacus*, *Sarcina citrea* et *aurantiaca*, *B. pyocyaneus*. En outre, nous avons isolé dix autres espèces de bacilles que nous n'avons pas identifiés et deux moisissures.

b) Comme aérobies non protéolytiques et anaérobies facultatives, nous avons toujours trouvé le *B. coli* et, comme dans le groupe précédent d'ailleurs, un petit bâtonnet, que nous n'avons pas identifié. Nous avons rencontré encore *Enterococcus sacharomyces*, et une fois *B. coli* typhomorphe (Tissier). En outre nous avons vu 10 microbes non identifiés par nous.

c) Parmi les microbes acidophiles, nous avons isolé le *Coccolobacillus* et encore une espèce que nous avons reconnue être le *B. clostridioformis*.

d) Parmi les anaérobies protéolytiques, nous avons rencontré chez tous les lapins le *B. perfringens* et très souvent le *B. sporogenes* et le *B. putrificus*.

e) Comme anaérobies non protéolytiques, nous avons rencontré une fois dans chaque cas le *B. Rodella III*, et encore deux formes que nous n'avons pas pu identifier.

En comparant la flore intestinale des lapins nourris de carottes et de ceux qui ont été soumis à l'inanition, nous voyons qu'au point de vue des microbes protéolytiques, la différence n'est pas grande. Chez les uns et chez les autres nous avons également rencontré parmi les anaérobies : *B. perfringens*, *B. putrificus* et *B. sporogenes*; parmi les aérobies : *B. megatherium*, *mesentericus* et d'autres.

Il faut remarquer cependant que le *B. perfringens*, *B. putrificus* et *B. sporogenes* peuvent être isolés en nombre beaucoup plus grand chez les lapins en état de jeûne. Cette constatation ne doit pas être perdue de vue quand on étudie les conditions dans lesquelles l'indol se forme dans l'intestin des animaux à jeun. Ces microbes sont parmi les microbes protéolytiques les plus énergiques; et même quelques variétés de *B. sporogenes* produisent elles-mêmes de l'indol. En tout cas, elles préparent le terrain à ceux des microbes qui, comme le *B. coli*, jouent un très grand rôle dans la production d'indol. Ainsi l'augmentation du nombre de ces microbes dans l'intestin des animaux à jeun doit favoriser la production d'indol.

La différence entre les deux flores paraît plus nette, quand on y étudie les microbes acidophiles : ce qui frappe, c'est l'absence totale dans l'intestin des animaux en état d'inanition de *B. Moro*, et de *B. Mereschkowsky* et aussi de *B. bifidus*. Ceci est important, car les microbes acidophiles sont de grands antagonistes de ceux qui décomposent les albumines. Malheureusement, la technique actuelle ne permet pas de donner la notion exacte du nombre de ces microbes dans l'intestin des lapins, nourris de carottes.

En résumé et en nous basant sur l'étude de la flore intestinale, nous pouvons conclure que le *B. coli* est le plus grand producteur d'indol dans l'intestin des animaux à jeun. Nous avons trouvé ce microbe dans l'intestin de nos deux lots de lapins, et le fait que la production d'indol est plus riche chez des animaux à jeun doit être attribué soit à l'augmentation du *B. coli* chez ces derniers, soit à la création de conditions spéciales, qui favoriseraient la fonction indolique de ce microbe.

II

DE LA VARIATION QUANTITATIVE DU *B. coli* CHEZ LES LAPINS SOUMIS A L'INANITION ET DE LA MODIFICATION DE SA FONCTION INDOLIQUE DANS L'INTESTIN DES LAPINS NOURRIS DE CAROTTES EXCLUSIVEMENT.

Nos recherches sur la composition qualitative de la flore intestinale des lapins nourris de carottes exclusivement et de ceux qu'on avait soumis à l'inanition ne nous donnent pas encore

la raison de la production exagérée d'indol dans l'intestin des animaux en état d'inanition et par cela même ne nous expliquent pas l'augmentation de l'indican dans l'urine de ces mêmes lapins.

En faisant avec des excréments des ensemencements en stries (ou sur agar dans les boîtes de Petri), nous avons remarqué que les excréments des lapins à jeun donnaient un nombre des colonies de *B. coli* plus grand que les matières fécales des lapins nourris de carottes. Ceci nous a fait supposer qu'il se créait pendant l'inanition des conditions spéciales, dans lesquelles le *B. coli*, producteur principal de l'indol dans l'intestin, pouvait se développer librement et donner de l'indol aux dépens des peptones qui se trouvent dans l'intestin.

Nous avons voulu vérifier notre supposition. La marche de nos recherches fut la suivante : les lapins qui ont servi à nos expériences ont été mis pendant un temps assez long (un à deux mois) au régime des carottes. Tous les jours nous cherchions l'indican dans leur urine. Ensuite, au bout d'un certain temps, nous établissions le nombre moyen de colonies de *B. coli*, poussé sur agar, ensemencé avec l'anse de platine chargée de l'émulsion faite des excréments.

La concentration de l'émulsion pour le même lapin fut la même, mais pour des lapins différents, cette concentration variait en raison inverse de la quantité de *B. coli* contenue dans une unité, qui est l'anse de platine.

L'émulsion pouvait servir à l'expérience, quand l'anse de platine chargée une *seule* fois donnait 10 à 20 colonies.

Le produit, qui fut l'objet de nos recherches, était cueilli de la façon suivante : on mettait sous le fond à mailles larges de la cage du lapin un papier à filtrer très propre, sur lequel venaient tomber les excréments du lapin. Nous nous servions pour nos recherches de matières fécales fraîches. Avec une petite pince stérile, on en pesait sur une balance de précision 1 gramme, qu'on écrasait soigneusement dans 40 cent. cubes de sérum physiologique. De cette émulsion à 1 p. 10 on en faisait d'autres dilutions : 1 p. 100, 1 p. 1.000, 1 p. 8.000 et ainsi de suite. Pour rechercher laquelle de ces dilutions convenait mieux pour les ensemencements, nous prélevions chaque fois la quantité d'émulsion, avec laquelle on pouvait charger une anse de platine normale. Pour obtenir les colonies du *B. coli*, et pour leur numération, nous nous servions, les premiers temps, de deux procédés :

1° Nous faisons des ensemencements dans des tubes à agar simple fondu et refroidi à 43 degrés. Nous introduisons l'anse de platine en l'agitant. On plaçait ensuite les tubes dans une position verticale. Pour éviter toutes sortes

d'éventualités on chargeait de la même émulsion 10 anses et on ensemençait 10 tubes ;

2° Nous faisons avec l'anse de platine, chargée de l'émulsion des ensemencements en stries sur la surface de l'agar coulé dans des boîtes de Petri et refroidi. (Agar Drigalsky-Conradi.)

On prenait 10 anses de platine comme auparavant.

Les colonies poussaient au bout de vingt-quatre heures (à peu d'exceptions près toutes furent des colonies de *B. coli*), on en faisait la numération dans lesdits tubes et en prenant le chiffre moyen, nous obtenions l'indicateur de la quantité de *B. coli* dans l'unité d'excréments du jour même.

Il faut remarquer que les colonies ensemencées dans les boîtes de Petri, devenaient souvent confluentes et rendaient par là la numération difficile, nous nous sommes arrêté au premier procédé.

Nous donnons dans le tableau ci-contre le résultat de nos recherches quantitatives sur le *B. coli*, chez dix lapins (n°s 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21) soumis à l'inanition. Les lapins n°s 12, 13, 14, 15 et 16 furent tués au moment de la grosse indicanurie ; les lapins n°s 18, 19, 20, 21 ont succombé à l'inanition.

Tout en faisant nos recherches quotidiennes sur la quantité des germes de *B. coli* dans les excréments, nous analysions également, tous les jours, l'urine au point de vue de l'indican et ceci pour voir s'il y avait un parallélisme entre l'augmentation du *B. coli* dans les matières fécales et celle de l'indican dans l'urine.

En ramenant le nombre des colonies à un chiffre moyen, voici ce que nous avons vu chez nos lapins :

Lapin n° 12. — Pendant qu'une anse de platine chargée de l'émulsion d'excréments à 1 p. 1.000 donnait en moyenne avant l'inanition 2,2 colonies pour un tube, la même émulsion, après 2 jours de jeûne, donnait déjà 4,4, et après 3 jours, quand on trouve dans l'urine une grosse quantité d'indican, on obtient avec la même émulsion 35,8 colonies pour un tube.

Lapin n° 13. — Avant l'inanition : de 15,5 à 24 colonies (toujours avec une anse de platine et l'émulsion à 1 p. 1.000).

Après 24 heures de jeûne : 28,8.

Après 2 jours de jeûne : 39,0 avec beaucoup d'indican dans l'urine.

Lapin n° 14. — Avant l'inanition, avec une émulsion à 1 p. 100 : 3 colonies ; 2 jours après, quand l'indican apparaît dans l'urine en quantité considérable, on trouve : 7,2 colonies.

Lapin n° 15. — Avant l'inanition, l'anse avec l'émulsion à 1 p. 1.000 donne : 20,5 colonies pour un tube.

Après 2 jours d'inanition : 26,3 et de l'indican dans l'urine.

LAPINS et DATES	OBSERVATIONS	INDICAN	DILUTION	NOMBRE DE COLONIES										Total	Moyenne
				Par tube											
Année 1912.															
N° 12															
29 oct.	Avant l'inanition.	0	1/500	5,	4,	4,	5,	6,	6,	10,	6,	4,	1	48	4,8
30 —	Pas d'excréments.	0	1/1.000	1,	6,	2,	3,	1,	1,	3,	0,	2,	0	22	2,2
31 —	Après 2 j. d'inan.	0	1/500	8,	10,	7,	10,	4,	4,	10,	6,	8,	8	85	8,5
1 ^{er} nov.	Après 3 j. d'inan.	0	1/1.000	»	»	»	»	»	4,	5,	5,	7,	1	22	4,4
		+++	1/1.000	34,	56,	35,	29,	33,	34,	36,	37,	34,	30	358	35,8
N° 13															
21 oct.	Avant l'inanition.	0	1/1.000	14,	14,	15,	13,	9,	16,	19,	24,	19,	12	155	15,5
22 —	»	0	1/1.000	»	»	»	»	»	22,	24,	22,	28,	25	121	24,0
23 —	»	0	1/2.000	»	»	»	»	»	14,	12,	12,	8,	6	52	10,4
24 —	Après 24 h. d'inan.	0	1/2.000	12,	7,	18,	13,	7,	10,	13,	8,	10,	5	103	10,3
25 —	Après 2 j. d'inan.	0	1/2.000	19,	11,	13,	14,	18,	10,	18,	14,	14,	13	144	14,4
		+++	1/2.000	16,	21,	22,	17,	20,	23,	18,	22,	23,	13	195	19,5
N° 14															
3 oct.	Avant l'inanition.	0	1/100	3,	2,	1,	2,	8,	8,	3,	3,	0,	0	30	3,0
4 —	Pas d'excréments.	0													
5 —	2 j. d'inanition.	+++	1/100	8,	6,	6,	8,	8,	2,	6,	12,	10,	6	72	7,2
»	3 ^e et 4 ^e j. pas d'exc.	+++													
8 —	5 j. d'inanition.	+++	1/100	»	»	»	»	»	8,	8,	8,	15,	14	53	10,6
N° 15															
15 oct.	Avant l'inanition.	0	1/1.000	18,	19,	21,	23,	23,	23,	18,	20,	19,	21	205	20,5
17 —	2 j. d'inanition, beaucoup de pigm.	+	1/1.000	22,	24,	21,	24,	24,	26,	38,	22,	24,	38	263	26,3
	Tué après 3 jours d'inanition.	+++													
N° 16															
22 oct.	Avant l'inanition.	0	1/15.000	12,	13,	16,	10,	9,	8,	9,	9,	13,	13	112	11,2
23 nov.	»	0	1/15.000	9,	4,	5,	5,	6,	4,	10,	2,	7,	3	55	5,5
25 —	»	0	1/15.000	7,	5,	7,	2,	7,	2,	4,	1,	2,	5	42	4,2
26 —	»	0	1/15.000	8,	5,	2,	3,	3,	8,	7,	3,	7,	3	49	4,9
27 —	»	0	1/15.000	4,	5,	1,	3,	2,	3,	1,	3,	8,	4	34	3,4
28 —	1 j. d'inanition.	++	1/15.000	3,	6,	8,	10,	4,	4,	2,	6,	4,	3	50	5,0
29 —	2 jours.	+++	1/15.000	86,	75,	90,	72,	70,	90,	90,	60,	85,	69	787	78,7
N° 17															
29 nov.	Avant l'inanition.	0	1/500	2,	2,	2,	2,	4,	4,	3,	4,	2,	1	26	2,6
30 —	»	0	1/500	1,	2,	4,	1,	2,	0,	0,	1,	1,	3	15	1,5
2 déc.	»	0	1/500	1,	2,	1,	3,	3,	3,	1,	5,	1,	4	24	2,4
4 —	»	0	1/500	2,	1,	1,	1,	2,	1,	1,	2,	0,	1	12	1,2
5 —	1 j. d'inan., pigm.	0	1/500	6,	3,	4,	2,	1,	5,	1,	2,	3,	3	30	3,0
6 —	2 j. d'in., pas pigm.	0	1/500	10,	13,	12,	10,	16,	10,	14,	13,	11,	11	120	12,0
7 —	3 j. d'inanition.	+++	1/500	12,	14,	14,	17,	18,	17,	13,	15,	21,	20	161	16,1
	4 ^e j. d'in., pas d'exc.	+++													
9 —	5 ^e j. d'in.; meurt.	+	1/500	49,	51,	53,	43,	64,	64,	52,	54,	63,	75	568	56,8
Année 1913.															
N° 18															
2 janv.	Avant l'inanition.	0	1/1.000	4,	4,	6,	3,	4,	5,	3,	5,	5,	3	42	4,2
4 —	»	0	1/1.000	4,	3,	4,	4,	5,	3,	3,	4,	3,	3	36	3,6
5 —	»	0	1/1.000	3,	5,	3,	4,	4,	5,	4,	5,	4,	4	41	4,1
6 —	24 h. d'inanition.	+	1/1.000	9,	14,	9,	15,	12,	12,	12,	11,	9,	13	116	11,6
7 —	2 j. d'inanition.	++	1/1.000	13,	12,	10,	10,	15,	10,	12,	11,	16,	10	119	11,9

LAPINS et DATES	OBSERVATIONS	INDICAN	DILUTION	NOMBRE DE COLONIES		
				Par tube	Total	Moyenne
Année 1913.						
N° 18 (Suite)						
8 janv.	3 j. d'inanition.	+++	1/1.000	20, 20, 17, 22, 17, 12, 18, 20, 18, 15	179	17,9
9 —	Pas d'excréments.	+++				
10 —	Pas d'excréments.	+++				
11 —	6 j. d'inanition.	+	1/1.000	65, 80, 88, 85, 90, 97, 73, 85, 82, 79	824	82,4
12 —	Mort ap. 7 j. d'inan.	0				
N° 19						
11 janv.	Avant l'inanition.	0	1/15.000	8, 7, 9, 10, 10, 5, 5, 9, 8, 7	78	7,8
12 —	»	0	1/15.000	7, 10, 9, 8, 10, 7, 8, 8, 6, 6	79	7,9
13 —	»	0	1/15.000	2, 4, 2, 2, 6, 3, 4, 3, 3, 4	33	3,3
14 —	»	0	1/15.000	4, 2, 2, 3, 3, 3, 6, 3, 3, 2	31	3,1
15 —	»	0	1/15.000	2, 3, 4, 6, 5, 3, 3, 3, 4, 4	37	3,7
16 —	1 j. d'inanition.	0	1/15.000	2, 4, 4, 2, 4, 4, 2, 3, 5, 2	32	3,2
17 —	2 j. d'inanition.	++	1/15.000	7, 5, 4, 5, 4, 3, 7, 5, 5, 5	50	5,0
18 —	3 j. d'inanition.	+++	1/15.000	20, 22, 23, 19, 25, 24, 22, 23, 17, 21	216	21,6
19 —	4 j. d'inanition.	+++	1/15.000	24, 29, 20, 20, 26, 22, 31, 19, 17, 24	232	23,2
20 —	Pas d'excréments.	+++				
21 —	Pas d'excréments.	+++				
22 —	7 j. d'inanition.	+++	1/15.000	3, 2, 3, 4, 1, 2, 3, 1, 2, 0	18	1,8
23 —	8 j. d'inanition.	+++	1/15.000	1, 2, 2, 5, 3, 3, 3, 1, 1, 2	23	2,3
24 —	9 j. d'inanition.	+++	1/15.000	5, 7, 8, 8, 5, 8, 5, 4, 5, 6	61	6,1
25 —	10 j. d'inanition.	++	1/15.000	3, 1, 2, 3, 3, 2, 2, 1, 5, 3	23	2,5
26 —	11 j. d'inan., meurt.	Traces.	1/15.000	4, 4, 4, 5, 4, 4, 4, 6, 3, 2	40	4,0
N° 20						
18 janv.	Avant l'inanition.	0	1/100	2, 3, 2, 2, 5, 3, 2, 2, 4, 2	27	2,7
19 —	»	0	1/100	6, 2, 6, 2, 5, 2, 4, 4, 2, 4	37	3,7
20 —	»	0	1/100	7, 3, 5, 4, 4, 3, 3, 5, 4, 3	41	4,1
21 —	»	0	1/100	3, 3, 3, 2, 1, 3, 1, 1, 3, 3	23	2,3
22 —	»	0	1/100	6, 7, 6, 4, 7, 5, 6, 4, 7, 6	58	5,8
23 —	»	0	1/100	3, 8, 4, 7, 6, 7, 4, 4, 7, 9	59	5,9
24 —	1 j. d'inanition.	0	1/100	8, 8, 6, 8, 10, 11, 9, 6, 9, 10	85	8,5
25 —	2 j. d'inanition.	++	1/100	10, 14, 8, 9, 14, 10, 16, 12, 9, 11	113	11,3
26 —	3 j. d'inanition.	+++	1/100	16, 16, 13, 13, 15, 13, 11, 17, 16, 14	144	14,4
27 —	4 j. d'inanition.	+++	1/100	20, 17, 21, 24, 21, 11, 17, 20, 19, 17	187	18,7
28 —	5 j. d'inanition.	+++	1/100	3, 2, 3, 3, 2, 5, 4, 2, 3, 5	32	3,2
	Meurt le 6 ^e jour.	+				
N° 21						
11 fév.	Avant l'inanition.	0	1/1.000	5, 4, 5, 5, 4, 3, 6, 4, 5, 2	43	4,3
12 —	»	0	1/1.000	4, 3, 4, 9, 2, 9, 6, 3, 4, 7	51	5,1
13 —	»	0	1/1.000	3, 3, 3, 6, 10, 8, 3, 5, 6, 4	51	5,1
14 —	»	0	1/1.000	5, 8, 11, 13, 12, 12, 6, 6, 12, 8	93	9,3
15 —	»	0	1/1.000	8, 9, 8, 9, 8, 8, 10, 5, 5, 8	78	7,8
17 —	»	0	1/1.000	7, 10, 14, 13, 7, 13, 11, 15, 7, 8	105	10,5
18 —	»	0	1/1.000	6, 7, 4, 4, 3, 10, 7, 6, 10, 6	63	6,3
19 —	»	0	1/1.000	12, 9, 7, 7, 13, 12, 8, 12, 15, 12	107	10,7
20 —	»	0	1/1.000	9, 6, 10, 9, 8, 4, 5, 10, 6, 6	73	7,3
21 —	»	0	1/1.000	4, 4, 3, 3, 2, 2, 4, 2, 2, 4	32	3,2
22 —	»	0	1/1.000	10, 5, 9, 7, 10, 5, 6, 5, 6, 6	69	6,9
24 —	»	0	1/1.000	3, 4, 2, 3, 4, 2, 1, 2, 2, 1	24	2,4
25 —	»	0	1/1.000	3, 10, 5, 8, 6, 10, 8, 3, 8, 4	65	6,5
26 —	»	0	1/1.000	4, 3, 6, 4, 3, 2, 2, 5, 3, 4	36	3,6
27 —	»	0	1/1.000	3, 5, 8, 5, 3, 3, 4, 4, 4, 6	45	4,5

LAPINS et DATES	OBSERVATIONS	INDICAN	DILUTION	NOMBRE DE COLONIES		
				Par tube	Total	Moyenne
Année 1913.						
N° 21 (Suite)						
28 fév.	1 j. d'inanition.	0	1/1.000	55, 52, 53, 57, 48, 65, 50, 47, 70, 75	572	57,2
1 ^{er} mars	2 j. d'inanition.	+	1/10.000	9, 6, 10, 9, 14, 8, 9, 11, 6, 6	88	88
2 —	3 j. d'inanition.	++++	1/10.000	26, 22, 24, 28, 22, 23, 30, 24, 29, 30	258	258
3 —	4 j. d'in., pas d'exc.	++++				
4 —	5 j. d'inanition.	++++	1/10.000	36, 38, 44, 34, 56, 44, 55, 33, 55, 35	427	427
5 —	6 j. d'inanition.	++++	1/10.000	120, 95, 100, 90, 110, 100, 90, 120, 100, 90	1.015	1.015
6 —	7 j. d'in., pas d'exc.	++++				
7 —	8 j. d'inanition.	++++	1/100.000	43, 44, 17, 46, 45, 45, 46, 48, 48, 44	456	1.360
8 —	9 j. d'inanition.	++	1/100.000	36, 46, 35, 40, 30, 38, 40, 47, 33, 37	382	3.820
	Meurt le 10 ^e j. d'in.	+				

Lapin n° 16. — Avant l'inanition, avec l'émulsion à 1 p. 15.000, de 3,4 à 4,9 colonies; 24 heures après : 5 colonies; 2 jours après : 48,7 colonies, et beaucoup d'indican dans l'urine. Après 3 jours d'inanition : 72,2, toujours d'une seule anse.

Lapin n° 17. — Avant l'inanition d'une seule anse, avec l'émulsion à 1 p. 500 : 1,2 à 2,6 colonies; 24 heures après : 3 colonies; 2 jours après : 12 colonies; 3 jours après : 46 colonies, et beaucoup d'indican dans l'urine.]

Après 5 jours : 5,68 colonies, pour une anse et un tube.

Le 6^e jour de jeûne, le lapin meurt, et, si on cherche à ce moment-là de l'indican dans l'urine, on en trouve très peu.

Lapin n° 18. — Avant l'inanition, une anse d'émulsion à 1 p. 1.000 donnait : 3,6 à 4,2 colonies; 24 heures après : 41,6; 2 jours après : 41,9; 3 jours après : 17,9, et une grosse quantité d'indican dans l'urine. Après 6 jours de jeûne : 82,4 colonies.

Le 7^e jour, l'animal meurt, et, dans l'urine, des traces d'indican.

Lapin n° 19. — Avant l'inanition, une anse d'émulsion à 1 p. 15.000 donnait : 3,1 à 3,7 colonies; 24 heures après : 3,2; 2 jours après : 5 colonies; après 3 jours d'inanition : 21,6, et beaucoup d'indican. Après 4 jours : 23,2. Deux jours de suite, pas d'excréments du tout.

Après 7 jours d'inanition, on n'obtient que 4,8 colonies, avec cependant beaucoup d'indican dans l'urine.

Après 8 jours : 2,3; après 9 jours : 6,1; après 10 jours : 2,5, avec peu d'indican.

Après 11 jours de jeûne : 4 colonies, et l'indican absent dans l'urine. Le 12^e jour, l'animal meurt.

Lapin n° 20. — Avant l'inanition, on obtenait, avec une anse d'une émulsion à 1 p. 1.000 : de 2,3 à 5,9 colonies; après 24 heures : 8,5; après 2 jours : 41,3; après 3 jours : 44,4, et beaucoup d'indican.

Après 4 jours : 48,7; après 5 jours, malgré la grosse quantité d'indican, 3,2 colonies seulement.

Le 6^e jour, l'animal meurt, l'analyse de l'urine montrant très peu d'indican.

Lapin n° 21. — Avant l'inanition, une anse avec l'émulsion à 1 p. 1.000, on avait : 2,4 à 6,9 colonies; après 24 heures : 57,2; après 2 jours : 88; après 3 jours : 258, avec beaucoup d'indican; après 5 jours : 427; après 6 jours : 1.015; après 8 jours : 1.560; et enfin, après 9 jours : 3.820 colonies, pour une anse et un tube.

Le 10^e jour, l'animal meurt, et, comme presque toujours, peu d'indican dans l'urine.

Ces données nous amènent aux conclusions suivantes :

1° La quantité de *B. coli* viables augmente dans les excréments, aussitôt qu'on met le lapin en état d'inanition;

2° Leur nombre continue à augmenter parallèlement avec la durée de la période d'inanition et avec l'augmentation de l'indican dans l'urine;

3° Parfois, après un jeûne longtemps continué, le nombre de *B. coli* diminue. L'indican disparaît petit à petit et, au moment de la mort, il est même difficile de le constater dans l'urine, prise dans la vessie.

Ici, nous devons ajouter que l'augmentation du nombre du *B. coli* dans la même unité de poids, avant et pendant le jeûne, ne doit pas être mise sur le compte de la consistance des excréments.

Les premiers jours de l'inanition, les excréments du lapin, au point de vue de la consistance, ne diffèrent en rien de ceux qu'on recueille avant le jeûne. Les jours suivants et plus près de la mort, les excréments deviennent secs, et c'est à ce moment-là que nous voyons le nombre de *B. coli* diminuer, ce qui est naturel, car le milieu devient de moins en moins nutritif.

Quant au volume et au poids de la masse contenue dans l'intestin des animaux à jeun, on ne voit pas de différence avec ce qui se passe chez les lapins normaux, à l'exception de l'estomac, où on trouve à la place d'aliments une grosse quantité de mucus. La réaction du contenu intestinal ne diffère pas non plus de celle qu'on a chez les lapins ordinaires.

La grosse quantité de mucus qu'on trouve tout le long du tube digestif des lapins à jeun constitue la seule différence avec le contenu de l'intestin des animaux ordinaires.

A l'autopsie des lapins en état d'inanition, nous n'avons jamais remarqué d'hémorragie, pas plus que d'hyperémie le long de l'intestin.

Le fait de l'accumulation, dans l'intestin des lapins en état

d'inanition, de mucus, riche en peptone, l'augmentation du nombre de *B. coli*, capables de produire beaucoup d'indol dans ce milieu peptoné, l'accroissement parallèle du *B. coli* dans l'intestin et de l'indican dans l'urine, sont autant de circonstances qu'on n'a pas le droit de négliger, quand on discute la question de l'origine de l'indican urinaire chez des animaux en état de jeûne.

Avant d'aborder la recherche quantitative de *B. coli* chez un lapin donné, nous faisons desensemencements d'essai avec les excréments de ce même lapin. Nous répétons ces ensemencements tous les jours, pour nous assurer que la flore intestinale du lapin qu'on a soumis au régime de carottes était plus ou moins établie. Nous procédions en même temps à la numération du *B. coli*, pour savoir la dilution de l'émulsion à laquelle nous devions nous arrêter. Et ici nous avons assisté à des oscillations du nombre de *B. coli*, surtout prononcées les jours de passage vers le nouveau régime. Ici aussi, le nombre de *B. coli* augmentait beaucoup, mais sans influencer l'indican, car jamais nous n'avons pu le constater dans l'urine. Cette dernière constatation nous fait supposer que ce n'est pas tant l'accroissement seul du nombre de *B. coli* qui influence l'indican; mais qu'en état d'inanition, il doit se développer des races spéciales du *B. coli*, douées de la propriété de produire de l'indol, ou peut-être, que, chez un animal en état d'inanition, sont écartées les conditions qui entravent la production de l'indol chez le lapin nourri avec des carottes exclusivement.

Après avoir étudié 50 colonies du *B. coli* chez un lapin normal et autant chez un lapin en état d'inanition, nous pouvons conclure que, par rapport à la production d'indol, elles sont identiques. Nous avons recherché alors quelles étaient les conditions dans lesquelles vivait le *B. coli*, dans le contenu de l'intestin d'un lapin à jeun et d'un autre qu'on nourrit avec de la carotte.

Le lapin nourri avec de la carotte absorbe une grosse quantité de sucre de 3,05 à 4,5 p. 100 (1) du poids d'aliments. Il se crée dans l'intestin de ce lapin un milieu peptoné + sucre. Il n'y a pas de sucre dans l'intestin de lapin en état de jeûne.

(1) BALLAND, *Les aliments*. Baillièrre et fils, 1907, 2 volumes.

D'après les recherches de M. A. Berthelot (1), les sucres introduits avec les aliments, riches en hydrocarbure : carotte, betterave, raisin sec, datte, atteignent en certaine quantité le cæcum du lapin, tandis que, chez le macaque, ces sucres pénètrent dans le cæcum et dans la partie ascendante du côlon en très petite quantité seulement. Dans le contenu de la partie supérieure du gros intestin de lapin, on trouve seulement une petite quantité de sucre, et dans celui du côlon ascendant et descendant du singe, on en trouve des traces. L'auteur a conclu en se basant sur ce fait que, pour faire pénétrer les substances sucrées dans le gros intestin, on peut utiliser certains aliments, parmi lesquels les dattes paraissent être le meilleur, car elles contiennent beaucoup de sucre et peu d'eau.

Après viennent la carotte, la betterave, qui contiennent suffisamment de sucre. Notons que M. Metchnikoff et le Dr Wollman, dans leur dernier mémoire (2) « Sur quelques essais de désintoxication intestinale », en citant ces recherches, déclarent : « Le fait que les lapins, nourris avec de la carotte et de la betterave, produisent des quantités minimales d'indol ou n'en sécrètent pas du tout, s'explique facilement par la pénétration d'une grande quantité de sucre dans le gros intestin, lieu de la putréfaction intestinale. Les conditions chez l'homme et le singe sont sous ce rapport moins favorables. »

Ayant en vue toutes ces considérations, nous avons étudié les processus qui se passent dans l'intestin des lapins nourris de carottes, processus qui empêchent la production de l'indol ou qui en forment si peu qu'il est impossible de déceler dans l'urine l'indoxyl qui en dérive. Il résulte de l'étude de la flore intestinale que le principal producteur d'indol dans l'intestin est le *B. coli*.

Notre attention fut attirée sur les conditions qui empêchent cette bactérie de produire l'indol.

Nous disons que le *B. coli*, en se multipliant dans l'intestin des lapins, nourris avec de la carotte, vit pour ainsi dire dans un milieu peptoné et sucré, tandis que le contenu de l'intestin d'un lapin à l'état de jeûne présente un milieu peptoné mais sans sucre. Escherich avait fait remarquer l'action fermentative du *B. coli* sur le sucre. Plus tard, d'autres chercheurs comme Baginsky, Chantemesse et Widal, Péré Van Ermenghem et Van Ser, Neucké, Grimbert, Tissier et Martel et d'autres ont étudié les fermentations de ces différents sucres par ce microbe.

Il a été établi depuis que, si on ajoute du sucre au milieu

(1) A. BERTHELOT, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 19 mars 1910.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1912, p. 825.

dans lequel le *B. coli* peut produire de l'indol, ce microbe attaque avant tout ce sucre en formant des acides et que pendant ce temps il ne peut pas produire d'indol aux dépens des substances albuminoïdes qui se trouvent dans le milieu.

De notre côté nous avons entrepris l'étude de l'influence du sucre sur la production d'indol par le *B. coli*. Nous avons cultivé ce microbe dans du bouillon peptoné en y ajoutant 1 p. 100 de sucres variés et nous sommes arrivé à cette conclusion (1) que, quand le *B. coli* vit dans le bouillon peptoné avec 1 p. 100 de variétés de sucres, qui fermentent rapidement, tels que glucose, lévulose, lactose et mannite, il perd sa propriété de produire l'indol. Dans le bouillon, au contraire, auquel on ajoute du maltose ou du saccharose, sucres faiblement fermentés par le *B. coli*, il formera de l'indol d'une façon d'autant plus intense que la fermentation des sucres sera plus faible.

Ne se passe-t-il pas quelque chose d'analogue dans l'intestin du lapin, nourri de carottes riches en sucre? La fermentation de sucres dans l'intestin d'un lapin normal n'entrave-t-elle pas la production d'indol par le *B. coli*? Cet obstacle n'existe pas dans l'intestin des lapins en état d'inanition et c'est pourquoi peut-être le *B. coli* y produit aux dépens des peptones du mucus intestinal une si grande quantité d'indol. Nous n'avons pas l'intention d'identifier la vie du *B. coli* dans le bouillon de culture et dans le contenu de l'intestin; mais, pour expliquer des faits semblables, nous nous sommes permis de faire cette analogie.

On peut nous faire l'objection suivante et nous nous y attendons : Dans le tube au bouillon peptoné et sucré, dans lequel, après pullulation du *B. coli*, on n'a pas pu constater d'indol, il se produit toujours une grosse acidité, ce qu'on ne peut pas observer dans l'intestin du lapin, nourri avec de la carotte; ne pourrait-on pas considérer cette acidité comme obstacle à la production d'indol par le *B. coli*? A cette objection nous pouvons répondre par les recherches de Péré (2), qui cultivait le *B. coli* sur une couche mince de bouillon peptoné et sucré, bouillon qui était mis au-dessus d'une couche de car-

(1) ROUGENTZOFF, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXIV, p. 1098.

(2) PÉRÉ, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892, p. 512.

bonate de chaux (qui servait justement à neutraliser l'acidité). Et dans ce milieu neutre il a remarqué un ralentissement dans la production d'indol.

Nous-même, à notre tour, nous avons étudié 20 échantillons de *B. coli*, après des ensemencements dans du bouillon simple, dans du bouillon avec glucose et enfin dans du bouillon glucosé auquel on mélangeait une petite quantité de carbonate de chaux.

On mettait les derniers tubes à l'étuve dans une position inclinée et on obtenait ainsi une couche mince de bouillon sur la couche de carbonate de chaux qui s'était déposée au fond. Nous avons étudié ces tubes au point de vue de l'acidité et de l'indol et nous avons obtenu les résultats suivants :

N ^{os} des colonies.	BOUILLON ORDINAIRE		BOUILLON GLUCOSÉ		BOUILLON GLUCOSÉ + CARBONATE DE CHAUX	
	Acidité.	Indol.	Acidité.	Indol.	Acidité.	Indol.
1	0	× × ×	× × ×	0	0	0
2	0	× × ×	× × ×	0	0	+
3	0	× × ×	× × ×	0	0	0
4	0	× × ×	× × ×	0	0	0
5	0	× × ×	× × ×	0	0	+
6	0	× × ×	× × ×	0	0	0
7	0	× × ×	× × ×	0	0	0
8	0	× × ×	× × ×	0	0	0
9	0	× × ×	× × ×	0	0	0
10	0	× × ×	× × ×	0	0	+
11	0	× × ×	× × ×	0	0	0
12	0	× × ×	× × ×	0	0	0
13	0	× × ×	× × ×	0	0	0
14	0	× × ×	× × ×	0	0	0
15	0	× × ×	× × ×	0	0	0
16	0	× × ×	× × ×	0	0	0
17	0	× × ×	× × ×	0	0	0
18	0	× × ×	× × ×	0	0	0
19	0	× × ×	× × ×	0	0	0
20	0	× × ×	× × ×	0	0	0

Nous pensons que le ralentissement dans la production d'indol est dû, non pas à l'acidité qui se forme dans le tube au

bouillon peptoné et sucré, mais à la modification dans l'alimentation du microbe.

CONCLUSIONS.

1° L'étude comparée de la composition qualitative de la flore intestinale des lapins, nourris de carottes, et de ceux qui sont soumis à l'inanition, ne nous donne pas encore l'explication de l'augmentation de l'indican dans l'urine des animaux à jeun.

2° Il se crée peut-être, dans l'intestin des lapins nourris de carottes et grâce à la présence de sucres, des conditions spéciales qui empêcheraient le *B. coli* de produire l'indol.

3° Chez des lapins, au contraire, qui sont soumis à l'inanition et qui sont ainsi privés de sucre alimentaire, le *B. coli* paraît produire de l'indol d'une façon tellement intense qu'on peut constater dans leur urine le dérivé de l'indol, l'indican urinaire.

4° Les sucs digestifs, riches en albumine, doivent contribuer à la formation d'indol dans l'intestin des animaux à jeun.

5° L'augmentation de l'indol et de l'indican urinaire doit dépendre également du nombre toujours croissant de *B. coli* dans l'intestin des animaux en état d'inanition.

6° Toutes nos recherches nous permettent de supposer que l'indican chez des animaux à jeun est bien d'origine intestinale.

En terminant ce travail, nous nous faisons un devoir et un plaisir d'exprimer toute notre reconnaissance à M. le professeur Metchnikoff, pour le sujet qu'il nous a proposé et de l'aide bienveillante avec laquelle il nous a guidé au cours de nos recherches.

Nous adressons aussi nos meilleurs remerciements à M. le Dr Wollman, pour les conseils qu'il a bien voulu nous accorder.

20 septembre 1913.

Le Gérant : G. MASSON.



Fig 1



Fig 2

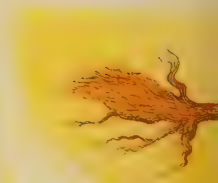


Fig 3

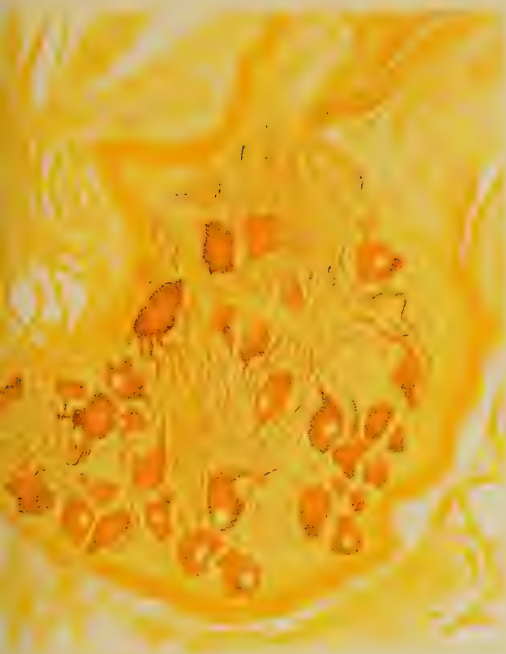


Fig 3

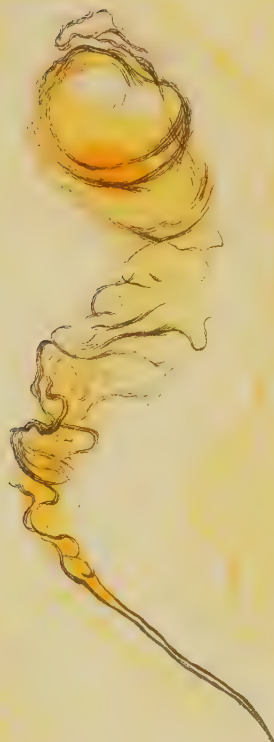


Fig 4

Fig 6





Fig. 7



Fig. 9



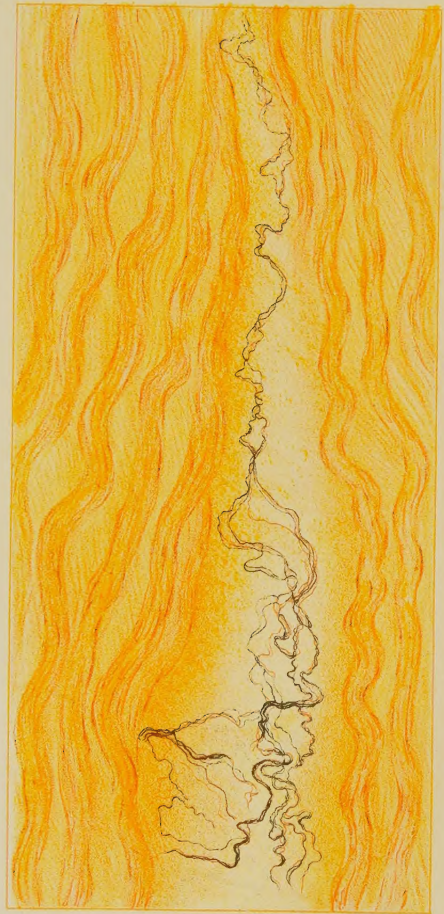


Fig 8

